



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

REVISÃO DO SISTEMA DE GESTÃO DE SEGURANÇA ALIMENTAR  
APLICADO A UMA EMPRESA DE TRANSFORMAÇÃO DE CARNE DE  
AVES: VERIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DE PRÉ REQUISITOS OPERA-  
CIONAIS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLO.

Ellen Aparecida Moisés da Silva

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor António Salvador Ferreira Henriques  
Barreto  
Doutora Ana Rita Barroso Cunha de Sá  
Henriques  
Dra. Maria Luísa Nunes Ferreira

**ORIENTADORA**

Dra. Maria Luísa Nunes Ferreira

**COORIENTADORA**

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

Lisboa  
2017

---



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

REVISÃO DO SISTEMA DE GESTÃO DE SEGURANÇA ALIMENTAR  
APLICADO A UMA EMPRESA DE TRANSFORMAÇÃO DE CARNE DE  
AVES: VERIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DE PRÉ REQUISITOS OPERA-  
CIONAIS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLO.

Ellen Aparecida Moisés da Silva

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor António Salvador Ferreira Henriques  
Barreto  
Doutora Ana Rita Barroso Cunha de Sá  
Henriques  
Dra. Maria Luísa Nunes Ferreira

**ORIENTADORA**

Dra. Maria Luísa Nunes Ferreira

**COORDINADORA**

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

Lisboa  
2017

---

*"Ninguém escapa ao sonho de voar, de ultrapassar os limites do espaço onde nasceu, de ver novos lugares e novas gentes. Mas saber ver em cada coisa, em cada pessoa, aquele algo que a define como especial, um objeto singular, um amigo, é fundamental. Navegar é preciso, reconhecer o valor das coisas e das pessoas, é mais preciso ainda."*

**Antoine de Saint-Exupery**

## **Agradecimentos**

Deus no início, meio e fim.

Minha mãe Maria Izabel, que é a mulher mais incrível que eu conheço, tenho a honra de ter uma grande guerreira ao meu lado, uma pessoa que me ensinou o valor das coisas, me fez ser quem sou hoje, por ela tenho o maior orgulho, meu desejo é ser uma grande mulher como ela é, todas as frases desse mundo seriam pouco para expressar o meu amor, te amo.

A minha tia Maria Lúcia tenho a maior sorte desse mundo em poder dizer que tenho duas mães, que tanto fez e tanto lutou para poder ver meu sonho realizado, e se hoje estou onde estou devo muito a ela. Minha avó que me ensinou que na vida, deve-se lutar, e que podemos ser doutores, mas sem a sabedoria e humildade nunca seremos grandes pessoas. Minha irmã de quem sinto tanta falta, meu grande orgulho, minha futura médica veterinária, ela é a razão de eu ser uma pessoa melhor, para poder ser o melhor exemplo, vou sempre cuidar de você, seja onde for.

Ao Gonçalo, meu amor, meu amigo, a pessoa que me sustenta e não me deixa cair, que tanto me ensinou e que me faz sorrir todos os dias, ele é parte disso tudo.

À Professora Doutora Maria João Fraqueza por me ter aceitado orientar, por seus ensinamentos e amabilidade com que sempre me tratou.

À Dr<sup>a</sup>. Luísa Ferreira por ter acreditado em mim e me ter dado a oportunidade de realizar a tese em seu departamento.

Dr<sup>a</sup>. Tânia Lopes que sempre esteve disponível para qualquer eventual situação e por ser, além de colega, uma amiga.

Quero agradecer a Eng. Maria José e a Técnica Maria Helena, por todo apoio e carinho que sempre me deram, serão inesquecíveis.

Aos meus Primos que tanto amo. Neuziane Gonzaga, Lindomar Porfirio e Eloisa Soares.

Aos meus amigos Jaqueline Gregório, Cássia Barbosa, Clotilde Pimentel, Olga Cirilo, Mônia Nunes, Paula Eloize, Flávio Joaquim, Maria Valente, Márcia Leão, obrigada por tudo.

E aos meus amigos do Brasil que me apoiaram e me deram motivação sempre, tenho saudades.

# **Revisão do sistema de gestão de segurança alimentar aplicado a uma empresa de transformação de carne de aves: verificação e validação de pré-requisitos operacionais e pontos críticos de controlo.**

## **Resumo**

Este trabalho teve como objetivo a verificação/validação das metodologias preventivas que pretendem controlar potenciais perigos que podem afetar a qualidade e segurança de produtos cárneos de aves. Foram verificados e validados: a) um pré-requisito relacionado com a higienização de superfícies de contacto na sala de desmancha de frango ao longo de um dia de trabalho; b) um programa de pré-requisito operacional relacionado com a temperatura de refrigeração e de congelação do camião frigorífico de transporte, e c) dois pontos de controlo críticos relacionados com a eficácia do binómio tempo/temperatura utilizados na cozedura e no arrefecimento de fiambre. Nas validações foram utilizados métodos microbiológicos e metrológicos cujos resultados foram tratados estatisticamente. Para o estudo referente à evolução microbiológica das superfícies de desmancha de frango, concluiu-se que uma higienização intermédia não se justifica, uma vez que a curva de multiplicação dos indicadores microbiológicos avaliados, tem um crescimento rápido e os meios despendidos para tal ação não compensariam. No processo térmico de cozedura e arrefecimento de fiambres, validou-se o binómio tempo/temperatura atingido no processo de cozedura e de arrefecimento rápido em do produto após a cozedura em câmara de refrigeração. A avaliação da temperatura final do produto transportado ao cliente, permitiu concluir que mantendo uma boa gestão de temperatura combinada com o tempo se garante a sua conformidade.

**Palavras-chave:** Sistema de gestão de segurança dos alimentos, validação, verificação, produtos cárneos de aves.

## **Review of the food safety management system applied to a poultry meat processing company: verification and validation of operational prerequisites and critical control points.**

### **Abstract**

The aim of this work was to verify and validate methods intended to control potential hazards that may affect quality and safety of a poultry product. It has been verified and validated: a prerequisite regarding the microbial evolution on surfaces of a deboning process; an operational prerequisite, applied to the admissible temperature deviation in a isothermic tank truck without affecting the products final temperature upon arrival at customer premises; and at last critical control points used to verify the effectiveness of the binomial time/temperature used at cooking and cooling phases of poultry cooked ham. Microbiological and metrological methods have been used for validation and the results were statistically treated. Concerning the microbiological evolution of the deboning surfaces during a working day, it was concluded that an intermediate sanification it is not justified, since the microbiological curve has a fast growth, and the means for such action are expensive. The validation of the cooking and cooling process for time/temperature binomial was done and cooling of product after the cooking in cooling chamber. The permissible temperature deviations for the internal temperature of the transport truck, without influencing the final temperature of the product transported to the customer, depends of a good management of time to attain the temperature compliance.

**Key words:** Food safety management system, validation, verification, poultry meat products.

## Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract .....	iii
Índice .....	iv
Índice de figuras .....	vi
Índice de tabelas .....	vii
Índice de abreviaturas .....	viii
Lista de Símbolos .....	ix
Introdução .....	1
1 Revisão Bibliográfica .....	1
1.1 Carne de aves e produtos cárneos derivados .....	1
1.1.1 Aptidão tecnológica da carne de aves para processamento .....	2
1.1.2 Desmancha .....	3
1.2 Conservação e transformação aplicadas à carne de aves .....	4
1.2.1 Conservação por refrigeração .....	4
1.2.2 Aditivos alimentares .....	5
1.2.3 Transformação pelo calor .....	5
1.2.3.1 Cozedura .....	5
1.2.3.2 Fumagem a quente .....	6
1.3 Contaminação da carne de aves .....	6
1.4 Microrganismos indicadores em alimentos .....	8
1.4.1 Indicadores de Higiene .....	8
1.4.1.1 Microrganismos aeróbios mesófilos a 30°C .....	9
1.4.1.2 Coliformes totais .....	9
1.4.1.3 <i>Escherichia coli</i> .....	9
1.4.1.4 Bolores e Leveduras .....	10
1.4.2 Indicadores de segurança .....	10
1.4.2.1 <i>Salmonella</i> spp. ....	11
1.4.2.2 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	11
1.5 Metodologia do sistema HACCP .....	12
1.5.1 Programas de Pré-Requisitos .....	13
1.5.2 Programa de Pré-requisitos Operacionais (PPRO) .....	14
1.5.3 Implementação do sistema HACCP .....	14
1.5.4 Identificação de perigos e medidas preventivas .....	15
1.5.4.1 Tipos de perigos .....	15
1.5.4.2 Árvore de Decisão e identificação de pontos críticos de controlo .....	16
1.6 Sistemas de Gestão da Segurança dos Alimentos .....	18
1.6.1 ISO 22000:2005 .....	18
1.6.2 Validação de medidas de controlo .....	20
1.6.2.1 Simulações das condições validadas .....	21
2 Objetivos e justificação .....	22
3 Materiais e Métodos .....	22
3.1 Descrição da empresa .....	22
3.2 Caso1: Estudo da evolução das contagens microbianas em frango desmanchado e numa superfície de contacto ao longo de um dia de trabalho .....	23
3.3 Análise microbiológica .....	24
3.3.1 Colheita e preparação de amostras de superfície .....	24
3.3.2 Colheita e preparação de amostras de frango .....	24
3.3.3 Contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C .....	25
3.3.4 Contagem de coliformes totais .....	25

3.3.5 Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	25
3.3.6 Contagem de bactéria ácido-láticas .....	25
3.3.7 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativa.....	25
3.3.8 Contagem de bolores e leveduras .....	26
3.3.9 Pesquisa e Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	26
3.3.10 Caracterização e identificação de isolados .....	26
3.4 Teste de oxidase .....	26
3.5 Teste de catalase .....	27
3.6 Coloração Gram .....	27
3.7 Identificação dos isolados por testes bioquímicos miniaturizados API®.....	27
3.8 Critérios para avaliação dos resultados microbiológicos .....	28
3.9 Caso 2: Validação dos desvios de temperatura admissíveis para o camião frigorífico de transporte .....	28
3.10 Caso 3: Validação da eficácia do binómio tempo/temperatura da cozedura e arrefecimento de fiambre .....	29
3.10.1 Monitorização da temperatura interna do fiambre durante a cozedura.....	31
3.10.2 Monitorização do tempo e temperatura da câmara de arrefecimento.....	31
3.10.3 Análise microbiológica de produtos cárneos submetidos a tratamento térmico e arrefecidos.....	32
3.11 Análise estatística.....	32
4 Resultados e Discussão.....	32
4.1 Caso 1: Estudo da evolução das contagens microbianas em frango desmanchado e numa superfície de contacto ao longo de um dia de trabalho .....	32
4.1.1 Superfície A .....	32
4.1.2 Produto A .....	34
4.1.3 Superfície B .....	35
4.1.4 Produto B .....	37
4.1.5 Avaliação dos resultados microbiológicos obtidos nas superfícies e nos produtos da linha de desmancha de frango ao longo de um dia de trabalho .....	38
4.2 Caso 2: Validação dos desvios de temperatura admissíveis para o camião frigorífico de transporte .....	40
4.2.1 Produto refrigerado, miudezas.....	40
4.2.2 Produto Ultracongelado, “nuggets” .....	42
4.3 Caso 3: Validação da eficácia do binómio tempo/temperatura da cozedura e arrefecimento de fiambre .....	45
4.3.1 Cozedura de fiambre .....	45
4.3.2 Arrefecimento de fiambre.....	47
5 Conclusões Gerais.....	49
6 Bibliografia.....	51
7 Anexos.....	61



## Índice de figuras

Figura 1: Árvore de Decisão <i>Codex Alimentarius</i> (Duarte, 2010). .....	17
Figura 2: Organização do sistema de gestão (adaptado de CFP SA, 2016).....	18
Figura 3: Elementos chave dos sistemas de gestão da segurança alimentar – NP EN ISO 22000.....	19
Figura 4: Aplicação de sistemas de segurança dos alimentos .....	19
Figura 5: Ciclo de melhoria contínua (Bueno et al., 2013) .....	20
Figura 6: Vertentes da validação (Sadia, 2009) .....	21
Figura 7: Fluxograma do processo de fabrico de fiambre para fatiar.....	30
Figura 8: Representação da evolução das contagens microbianas ao longo do dia de trabalho na superfície A. ....	33
Figura 9: Representação da evolução das contagens da microbiota analisada no produto A. ....	34
Figura 10: Representação da evolução das contagens microbianas ao longo do dia de trabalho na superfície B. ....	36
Figura 11: Representação da evolução das contagens da microbiota analisada no produto B. ....	37
Figura 12: Resultados referentes ao transporte em camião de produto refrigerado. ....	40
Figura 13: Resultados referentes ao transporte de produto ultracongelado. ....	43
Figura 14: Binómio tempo/temperatura registado durante o arrefecimento do fiambre do peito de peru (1) e do fiambre da perna de peru (2).....	47

## **Índice de tabelas**

Tabela 1: Perigos associados à carne de aves e produtos cárneos.....	16
Tabela 2: Frequência de recolha de amostras ao longo do dia de trabalho. ....	23
Tabela 3: Binómios tempo/ temperatura de cozedura em função do tipo de produto (adaptado da empresa X). ....	31
Tabela 4: Caracterização de isolados recolhidos na superfície de trabalho na sala de desmancha de frango. ....	39
Tabela 5: Temperaturas (média e desvio padrão) internas do carro de transporte e do interior de uma cuvette com “miudezas”. ....	41
Tabela 6: Temperaturas (médias e desvio padrão) internas do carro de transporte e do interior de uma cuvette com “Nuggets”. ....	44
Tabela 7: Logaritmos das contagens (média e desvio-padrão) dos parâmetros microbiológicos analisados em ambos os fiambres considerados, antes e depois da cozedura. ....	46
Tabela 8: Logaritmos das contagens (média e desvio-padrão) dos parâmetros microbiológicos analisados em ambos os fiambres considerados, antes e após o processo de arrefecimento. ....	48

## **Índice de abreviaturas**

ANOVA – Análise de variância  
APCER – Associação Portuguesa de Certificação  
BAL – Bactéria Ácido-Láticas  
BPF – Boas Práticas de Fabrico  
BSI - British Standards Institution  
CE – Comunidade Europeia  
DG-SANCO - *Directorate General for Health and Food Safety*  
DRBC – Dichloran Rose Bengale Chloramphenicol Agar  
DS – Danish Standards  
*E. coli* – *Escherichia coli*  
EUA – Estados Unidos da América  
FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations  
HACCP - Hazard Analysis and Critical Control Point  
ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods  
ISO - International Organization for Standardization  
ITG – Instrução de Trabalho Geral  
NP – Norma Portuguesa  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
PCA – Plate Count Agar  
PCB – Polychlorinated biphenyl  
PCC – Ponto Crítico de Controlo  
PDCA – Plan, Do, Check, Act  
PPRO – Programa de Pré-Requisitos Operacionais  
SPSS - Statistical Package for Social Sciences  
TBX – Tryptone bile x-glucuronide  
USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos  
USP – Universidade de São Paulo  
VRBL – Violet Red Bile Lactose Agar

## **Lista de Símbolos**

< Menor

> Maior

$\bar{x}$  Média

° Grau

cm Centímetros

Log Logaritmos

p Nível de significância estatística

h horas

T° Temperatura

min minutos

## **Introdução**

A segurança alimentar tem vindo nestes últimos anos a adquirir enorme relevância no domínio da saúde pública. A carne de aves tem uma grande representatividade na alimentação humana por se tratar de um alimento cujo preço é relativamente baixo, nutricionalmente equilibrado, fácil de confeccionar e de sabor muito agradável. Vem crescendo cada vez mais o interesse do consumidor que por consequência têm incentivado uma maior preocupação no que concerne aos riscos causados à saúde pelo consumo de alimentos. Ao mesmo tempo tornou-se cada vez mais importante para o consumidor mediante os métodos tradicionais como sabor, aspeto e cheiro, avaliar a segurança dos alimentos, remetendo esta confiança para os produtores, distribuidores e reguladores de mercado, com o objetivo de assegurar total eficácia (Lobb *et al.*, 2005).

Neste seguimento, realizou-se este trabalho sendo este constituído por uma revisão bibliográfica, em que é referida a importância da segurança dos alimentos aplicada a uma indústria de carne de aves, sendo o seu reconhecimento baseado nos requisitos da norma ISO 22000:2005. Salientou-se a importância das validações e verificações de medidas de controlo de possíveis perigos relacionados aos produtos cárneos. O trabalho experimental foi dividido em três diferentes casos. No primeiro caso refere-se a verificação da evolução microbiológica das superfícies de contacto direto da sala de desmancha de frango ao longo de um dia de trabalho, no segundo caso foi efetuada a validação das etapas cozedura e arrefecimento de fiambres de carne de aves e no último caso validaram-se níveis de desvios de temperatura admissíveis para o camião frigorífico utilizado no transporte de produtos refrigerados e da gama dos congelados, sem influência sobre a temperatura final do produto transportado ao cliente.

Descrevem-se os métodos utilizados e discutem-se os resultados obtidos, com a finalidade de garantir em primeiro lugar a segurança dos alimentos para o consumidor por meio de um sistema de gestão eficiente, que permita eliminar ou minimizar os possíveis perigos relacionados aos produtos ofertados.

## **1 Revisão Bibliográfica**

### **1.1 Carne de aves e produtos cárneos derivados**

O setor avícola tem importância significativa na produção mundial de proteína animal. A carne de aves é responsável por mais de 30% do total de proteína animal consumida no mundo e trata-se do segmento que, nas últimas décadas, apresentou maiores transformações no setor técnico-produtivo, sendo ainda uma das alternativas mais rápidas e de menor custo de produção de proteína animal, fazendo frente às demandas alimentares e nutricionais de diversos países.

O consumo de carne de aves tem aumentado exponencialmente entre os consumidores de todo o mundo. As principais razões para o atual crescimento de consumo prendem-se com o fato dos produtos avícolas serem saudáveis e nutritivos, de fácil processamento, terem preços mais atrativos quando comparados com os produtos de carne vermelha (Aymerich *et al.*, 2008).

O economista e analista avícola Paul Aho (AVISITE, 2013) afirmou que a partir de 2014, os norte-americanos consumiriam um maior volume de carnes de frango e de peru do que de carnes vermelhas.

A carne e seus produtos derivados têm grande importância na composição de uma dieta completa e saudável, devido à sua composição nutricional. Entre os vários tipos de carne, a de aves possui características que lhe conferem uma boa avaliação nutricional e uma grande aptidão para o processamento (Pereira & Vicente, 2010). Para além de ser um produto relativamente barato, tem um sabor agradável e é fácil de confeccionar, exigindo pouco tempo na sua preparação, esta carne é consumida em larga escala por todo o mundo, uma vez que a relação qualidade/preço é bastante satisfatória para os consumidores (Sallam, 2007). Em muitos países, as práticas religiosas e culturais têm uma grande influência na preferência de consumo dos alimentos, atendendo a esses fatores os produtos à base de carne de aves não apresentam qualquer tipo de restrições, sendo a escolha de eleição (Van der Sluis, 2002; Mead, 2004).

#### **1.1.1 Aptidão tecnológica da carne de aves para processamento**

O facto de a carne de aves apresentar um sabor neutro, textura consistente e uma cor clara faz com que tenha uma grande aptidão para o processamento. A adição de determinados ingredientes, permite modificar as características tecnológicas e sensoriais da carne, tais como a retenção de água, a capacidade emulsionante da gordura e a textura (Hui, 2006).

Os ingredientes que podem ser adicionados variam de acordo com o produto que está sendo confeccionado. Para além dos ingredientes funcionais adicionados também são adicionados ingredientes para conferir sabor ao produto. Contudo, deve-se ter maior atenção para o facto de os ingredientes possuírem em sua composição alergénios, que podem dar origem a reações adversas ao indivíduo com alergia ou intolerância alimentar. A alergia alimentar proveniente de produtos à base de carne de aves é muito rara, normalmente as alergias relacionadas a estes produtos estão ligadas aos ingredientes que constituem a formulação de produtos cárneos (Sebranek, 2007). Além da atenção que deve ser dada aos alergénios também é relevante o uso de aditivos dentro dos limites legais, pela toxicidade cumulativa conferida a quem consome os produtos que os contém.

Um fator importante para ser levado em consideração está relacionado com a conservação. Podem ser adotadas várias técnicas de conservação para evitar a deterioração devido à proliferação microbiana e por oxidação. A forma mais comum de conservação é a refrigeração a baixas temperaturas, que influencia diretamente o aumento do tempo de vida útil do alimento, juntamente com a carga microbiana inicial. Segundo Barbut (2002) a carne deve ser armazenada entre -2°C e 0°C, de que resultará numa vida de prateleira maior se comparada com a carne armazenada a temperaturas de 4°C a 6°C.

O uso de altas temperaturas é outra técnica utilizada para a conservação, que é comumente utilizado na indústria alimentar, com o seu uso pretende-se inativar, reduzir ou eliminar a flora microbiológica presente no produto. O resultado final depende do binómio tempo e temperatura.

O processamento tecnológico não modifica de forma significativa as qualidades nutricionais originais, no entanto, atribui características como, cor, sabor e aroma, próprias de cada processo. Os tratamentos pelo calor resultam em uma alteração do produto em termos de textura, sabor, odor e carga microbiana (Barbut, 2002).

O que mais se destaca no processamento é a agregação de valor ao produto com a utilização de cortes que não são aproveitados para o consumo *in natura*, gerando alternativas para a sua comercialização. Com isso, estimula o desenvolvimento de novos produtos derivados, aumentando a oferta de géneros alimentícios disponíveis comercialmente (Embrapa, 2011).

### **1.1.2 Desmancha**

A comercialização da carne de frango pode ser feita de modo que a carcaça seja apresentada de forma inteira, podendo ser adicionado das vísceras comestíveis (moela, fígado e coração) e das patas acondicionados em sacos de plástico, o conjunto é depois pré-embalado e pré-refrigerado.

Por outro lado, pode ser efetuada a desmancha da carcaça, que é depois vendida em partes, o que traz valor acrescentado a este tipo de produto. Nestes casos a carcaça pode ser refrigerada durante 8 a 12 horas a 4°C. A carcaça pode ser desmanchada de forma manual ou automática, e em ambos os casos o peito, asas e os membros inferiores das aves, são separados da restante carcaça. O peito de frango é a parte mais valorizada, sendo muitas vezes designada por zona nobre, uma vez que esta peça é desprovida de pele, qualquer alteração é facilmente percebida pelo consumidor (Alvarado, 2006).

O peito de frango obtido é depois embalado em embalagem de atmosfera protetora, em que temos uma embalagem cujo ar é removido por vácuo ou por “*flushing*” e depois ocorre preenchimento com uma mistura de gases, seguido de selagem da embalagem.

A composição da mistura altera-se com o tempo de armazenamento como resultado do metabolismo bacteriano, absorção de gases pelo produto e difusão através da película da embalagem (Nollet & Toldrá, 2006).

## **1.2 Conservação e transformação aplicadas à carne de aves**

Atualmente, para além de um interesse económico associado a produção de produtos de origem cárneos, procura-se garantir a segurança e qualidade dos alimentos, através da aplicação de um conjunto de medidas preventivas necessárias ao longo da cadeia, processamento, armazenamento, distribuição e preparação dos produtos alimentares, garantindo que estes são seguros, saudáveis e adequados para o consumo humano (Correia, 2009).

A importância de conhecer e controlar as características do alimento e do ambiente em que este se encontra conservado, está relacionada com o facto dos microrganismos patogénicos, dependerem, entre outros fatores, da temperatura, humidade e relação tempo/temperatura, para se desenvolverem. Assim a incorreta conservação dos alimentos afeta a características sensoriais e a segurança sanitária dos mesmos. Em alimentos inadequadamente conservados, os microrganismos podem encontrar as condições necessárias para se desenvolverem, mais rapidamente (Hui *et al.*, 2006).

### **1.2.1 Conservação por refrigeração**

Neste processo a temperatura é mantida normalmente, entre 4 e 7°C. Este método reduz a multiplicação da maioria dos agentes patogénicos, embora alguns mais resistentes ao frio (psicrófilos) possam desenvolver-se (Lidon & Silvestre, 2008). Neste contexto, a conservação pelo frio permite controlar o teor microbiano (retardando ou impedindo-o), também pode reduzir substancialmente a velocidade de deterioração do produto, assim como reações químicas e enzimáticas. Dependendo do tipo de produto e microrganismo, assume-se que alguns microrganismos, em níveis aceitáveis, possam estar presentes nos produtos alimentares, podendo estes ser consumidos sem danos para a saúde (Lidon & Silvestre, 2008; Portal Segurança Alimentar, 2009).

A otimização dos sistemas de conservação pelo frio, requer a rápida submissão dos alimentos, são e de boa qualidade, após sua produção, ao efeito de temperaturas de refrigeração, assim como deve ser garantida a manutenção ininterrupta numa rede de frio até ao consumidor (Hui, 2006; Olinto, 2007).

Em carne de aves a temperatura de refrigeração não deve ser maior do que 7°C, no caso das “miudezas” não deve ser superior a 3°C (Regulamento n.º 853/ 29 de Abril de 2004). Segundo a FAO (2013), para reduzir o risco da multiplicação de microrganismos patogénicos nas carcaças e na carne de aves, estas devem ser refrigeradas ou consu-



midas imediatamente após o abate, deverão existir sistemas que assegurem um controle eficaz da temperatura quando esta se torna fundamental para a segurança e aptidão dos alimentos. Tais controles incluem as temperaturas de arrefecimento, processamento e armazenamento.

### **1.2.2 Aditivos alimentares**

Os aditivos são ingredientes adicionados aos alimentos, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais de um alimento, durante o seu processo de fabrico. Tem como vantagem o aumento da vida de prateleira do produto, atuando sobre os microrganismos, seja por inibição de seu crescimento, seja por ação indireta.

Os aditivos alimentares são expressos em legislação, o seu uso passa por um rígido controlo (Regulamento nº 1333/2008 e respectivas atualizações). Alguns aditivos, tais como os nitritos, são muito conhecidos e amplamente utilizados na fabricação de produtos cárneos. Os nitritos têm a capacidade única, entre todos os aditivos, de inibir a multiplicação de bactérias esporuladas (Cardoso *et al.*, 2011).

Segundo Bressan (2004), os aditivos são classificados de acordo com sua função: conservantes, antioxidantes, estabilizantes, corantes, condimentos e aromatizantes. Esses compostos são utilizados quando:

- Conservantes: retardam ou impedem alterações dos alimentos provocadas por microrganismos ou enzimas.
- Antioxidantes: os antioxidantes utilizados retardam o aparecimento de alterações oxidativas nos alimentos, evitando que eles adquiram o sabor de ranço. São usados também para estabilizar e uniformizar a cor nos produtos derivados de carne.
- Estabilizantes: os estabilizantes mantêm as características físicas das suspensões e emulsões, evitando que os ingredientes se separem com o tempo. Aumentam a capacidade de retenção de água da carne. São utilizados frequentemente em produtos emulsionados (salsichas, patês, mortadela).
- Corantes: são usados para melhorar a cor dos produtos cárneos.
- Aromatizantes: atribuem sabor e aroma característicos aos produtos cárneos, tornando-os mais saborosos e desejáveis ao paladar humano.

### **1.2.3 Transformação pelo calor**

#### **1.2.3.1 Cozedura**

De acordo com Gonçalves (2002), a cozedura causa alterações físicas evidentes devido à coagulação das proteínas na superfície do produto. Em produtos como por exemplo

fiambres, é a etapa em que o produto acondicionado dentro das formas é dirigido para a câmara de cozedura, onde vai ser submetido a temperatura e humidade controladas. É uma etapa bastante importante, pois aqui vão ser apurados alguns aspetos organoléticos e físicos do produto, e ainda promove uma destruição dos microrganismos patogénicos.

O processamento térmico, ou cozedura, é uma etapa delicada que requer um rigoroso controlo do tempo em conjunto com a temperatura, necessário para cada tipo de processo (Toldrá, 2010). Durante este processo, o fiambre é submetido a uma temperatura entre os 74- 80 °C até que o centro térmico do produto atinja os 72 °C, promovendo assim a desnaturação das proteínas da carne, melhorando a coesão, consistência e firmeza do produto acabado, bem como o desenvolvimento das características organoléticas típicas do fiambre (Toldrá, 2010).

#### **1.2.3.2 Fumagem a quente**

A fumagem consiste num processo de aplicação de fumo produzido pela combustão de algumas madeiras, que é impregnado na superfície de um alimento com a finalidade de conferir aroma, sabor e cor característicos e prolongar a sua vida útil. Normalmente fazem parte do processo uma secagem inicial, a deposição do fumo e a secagem adicional e/ou cozimento do produto. A forma de aplicação da fumagem pode variar de acordo com a quantidade e a velocidade da deposição do fumo, que dependem do substrato de defumação, condições da estufa. O fumo tem um efeito conservante que, associado ao calor, resulta na redução da actividade da água essencial ao controlo do desenvolvimento de microrganismos. Muitos componentes do fumo têm efeito bactericida e desinfetante. O fumo contém fenóis que, por serem antioxidantes, inibem a oxidação das gorduras e evitam o sabor de ranço (Arima & Lemos, 2002).

Quando em contacto com o alimento, no caso de produtos derivados de carne de aves o fumo provoca a perda da água, a superfície fica ressecada e a coloração estabilizada. A perda de água e a ação dos constituintes do fumo conferem ao alimento barreiras físicas e químicas eficientes contra a penetração e a atividade de microrganismos (USP, CENA/PCLQ, 2005).

A gama de produtos fumados derivados de carne de aves, é cada vez maior tendo o seu consumo aumentado exponencialmente.

### **1.3 Contaminação da carne de aves**

Os produtos alimentares estão sujeitos a vários focos de contaminação durante a sua preparação, confeção, transporte, armazenamento, e distribuição, tornando-se um veículo de doença para o consumidor. Essa contaminação resulta, normalmente, em doen-

ças do foro alimentar e pode ter origem física, química ou biológica (Loureiro, 2009). Qualquer que seja o estado físico dos produtos alimentares, eles são meios propícios para o crescimento de microrganismos. O tipo de microrganismos que se desenvolve no produto alimentar vai depender de diversos fatores como o meio ambiente, o valor do pH e o teor de humidade. A sua velocidade de multiplicação relaciona-se com a temperatura de armazenamento, com a humidade e com a composição da atmosfera circundante, em especial a concentração de oxigénio (Lindon & Silvestre, 2010).

Existem vários fatores que podem influenciar a qualidade microbiológica da carne de aves. Ao longo do seu processamento, a carne de aves passa por várias fases, incluindo o abate. A qualidade microbiológica da carne de aves é também influenciada pelo grau de higienização das instalações, superfícies e equipamentos com os quais contacta nas fases de desmancha.

A carne de aves podem servir de veículo a diversos microrganismos, alguns dos quais podem ser patogénicos, e/ou produtor de toxinas, podendo assim causar dano à saúde do consumidor quando ingeridos (Cansian *et al.*, 2005).

As doenças causadas pelos microrganismos presentes nos alimentos podem ser classificadas em infeções ou intoxicações, infeções mediadas por toxinas. Uma infeção alimentar é uma doença resultante da ingestão de um alimento contendo microrganismos vivos. Entende-se por intoxicação alimentar, a ingestão de toxinas (exotoxinas) produzidas por microrganismos mesmo que estes já tenham sido eliminados. As toxinfecções dão-se quando existe produção de toxina após a ingestão do alimento, quando este apresenta uma quantidade suficiente de microrganismos patogénicos, capazes de produzir/ libertar toxinas (Baptista & Antunes, 2005).

Na origem de doenças alimentares, as principais fontes de contaminação são:

- Más condições higio-sanitárias;
- Ingredientes contaminados;
- Fatores relacionados com a manipulação dos alimentos (refrigeração indevida, manipuladores doentes, armazenamento incorreto);
- Contaminação cruzada;
- Processamento inadequado dos alimentos;
- Falhas nos processos de controlo (Soares, 2007).

A presença de microrganismos na carcaça de aves é estimada por análise microbiológica. O teor microbiano de carcaças de frangos e seus derivados são representados por uma microbiota oriunda, principalmente, das aves vivas ou incorporadas em qualquer uma das fases do abate, sendo as etapas mais críticas o escaldão, a depena e a evisce-

ração. O problema agrava-se pelo fato de bactérias aderirem firmemente na pele da carcaça de frangos, não sendo facilmente removidas pela lavagem. (Soares *et al.*, 2002) Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), “a alimentação deve ser disponível em quantidade e qualidade nutricionalmente adequadas, além de ser livre de contaminações que possam levar ao desenvolvimento de doenças de origem alimentar” (Contreras *et al.*, 2003).

Alimentos que contém um nível não satisfatório de microrganismos nem sempre apresentam alterações sensoriais evidentes, a ingestão de um alimento contaminado não representam um problema sério, a menos que o contaminante presente seja um patogénico. É a presença de agentes patogénicos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* e *Campylobacter* spp., que tornam preocupantes os produtos cárneos de aves (Forsythe, 2002).

#### **1.4 Microrganismos indicadores em alimentos**

Consideram-se microrganismos indicadores aqueles que, quando presentes num alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a potencial existência de microrganismos patogénicos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o seu processamento, armazenamento ou distribuição (Forsythe, 2002).

A tipologia e quantidade dos microrganismos presentes nos alimentos tem relação direta com o grau de contaminação do ambiente o envolvente, nomeadamente das condições higiénicas do local de trabalho (superfícies, equipamentos, utensílios, etc.) e um dos fatores que tem maior interferência, que são os próprios manipuladores. Torna-se essencial proceder à avaliação da eficácia de planos de higienização e dos hábitos dos funcionários na manipulação de alimentos, recorrendo-se para isso à contagem e detecção dos microrganismos indicadores (Gamazo *et al.*, 2005).

##### **1.4.1 Indicadores de Higiene**

A qualidade e a inocuidade dos produtos de origem animal podem ser estimadas através da análise de indicadores, como os aeróbios mesófilos e coliformes. A quantificação de aeróbios mesófilos fornece uma estimativa da população geral de microrganismos que estão presentes nos produtos, e altos níveis de contaminação estão associados à baixa qualidade (Jay *et al.*, 2005). Enterobactérias e coliformes termotolerantes usualmente indicam contaminação de origem fecal.

#### **1.4.1.1 Microrganismos aeróbios mesófilos a 30°C**

A contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos inclui os microrganismos cujo intervalo de temperatura ótima de crescimento se situa entre os 30 e os 45°C (Pérez & Berenguer, 2006).

Através da contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos é possível fazer uma estimativa do teor microbiano total dos alimentos, das superfícies e dos equipamentos, sem especificar qual o tipo de bactérias presente. Embora seja considerada uma relação entre a alta contagem de mesófilos e a possível presença de patogénicos, uma vez que todos os patogénicos são mesófilos, alguns estudos têm demonstrado que essa associação não é totalmente verdadeira (Crowley *et al.*, 2005). A quantificação de mesófilos em alimentos possui relevância por indicar condições genéricas inadequadas de produção, conservação ou mesmo transporte (Serraino *et al.*, 2012). De maneira geral, níveis de contaminação por aeróbios mesófilos com uma baixa contagem indicam boas condições de higiene.

#### **1.4.1.2 Coliformes totais**

Organismos coliformes são bastonetes gram-negativos, que possuem, como habitat natural, o trato intestinal do homem e de animais. Pertencem à família *Enterobacteriaceae*, que inclui muitos géneros como *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Citrobacter*. Podem ser divididos em coliformes totais e fecais, divisão essa que depende do habitat em que o microrganismo vive. Os microrganismos indicadores são comumente utilizados para avaliar as condições higiénicas de alimentos; sua presença evidencia relação com o histórico da amostra. As contagens de coliformes são muito utilizadas nas análises de alimentos tratados termicamente. Nesse contexto, a presença de bactérias gram-negativas, por exemplo, é um indicativo de tratamentos térmicos inadequados ou de uma provável contaminação posterior (Lima & Sousa, 2002).

#### **1.4.1.3 *Escherichia coli***

*Escherichia coli*, membro da família *Enterobacteriaceae*, compreende bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, não esporulados, catalase positiva e oxidase negativa, podem apresentar mobilidade por meio de flagelos peritríquios. Possuem de 1,1 a 1,5 milímetro x 2,0 a 6,0 milímetro, ocorrendo em pares ou isoladamente e a sua temperatura ideal de multiplicação é de 37° C sendo termotolerantes.

Este microrganismo é considerado um dos patogénicos bacterianos mais versáteis: enquanto algumas estirpes são membros da microbiota de homens e animais, desempenhando um importante papel na fisiologia intestinal, possuem fatores de virulência que

as capacitam a causar infecções no trato intestinal ou em outros locais, como no trato urinário e até mesmo meningite (Doyle & Beuchat, 2007).

Devido à sua especificidade, a *E. coli* é considerada como um dos melhores indicadores de contaminação fecal. Uma vez que este microrganismo vive durante pouco tempo fora do ambiente entérico, a sua presença nos alimentos indica contaminação recente (Anderson & Pascual, 2000).

#### **1.4.1.4 Bolores e Leveduras**

A grande quantidade dos bolores e leveduras no ambiente justifica a sua frequente presença como contaminante nos produtos alimentares, visto que estes pela sua composição são um excelente meio para a fixação e multiplicação de grande número de espécies fúngicas. A sua proliferação ocorre com facilidade por serem mais tolerantes a fatores extremos que limitam o desenvolvimento bacteriano, como baixos valores de *aw*, pH e temperatura (Ross & Nichols, 2000).

A capacidade de desenvolvimento dos bolores a baixas temperaturas constitui um problema na conservação dos produtos cárneos. Deve-se ter maior atenção após o processamento térmico, quando os produtos são recontaminados com esporos destes microrganismos. A contaminação com bolores e leveduras altera as características organolépticas dos produtos e eventualmente pode ocorrer a potencial contaminação com micotoxinas. (Guerrero & Chabela, 2000)

Para além da qualidade das matérias-primas, o controlo do desenvolvimento dos bolores e leveduras passa pelos cuidados a ter com a qualidade do ar nas zonas de alto risco em que o produto permanece após o processamento térmico e antes de ser embalado, na utilização de embalagens adequadas, a vácuo ou com atmosfera modificada/protectora, visto que são aeróbios estritos, ou pelo eventual recurso a conservantes (Guerrero & Chabela, 2000).

Na ausência de cuidados após o processamento térmico, desenvolvem-se geralmente leveduras pertencentes aos géneros *Candida* spp., *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces* spp., *Torulaspora* spp. e *Tricosporon* spp., que por serem microaerófilas crescem em ambientes onde existem quantidades residuais de oxigénio como pode acontecer nas embalagens a vácuo ou em atmosfera modificada, passando nestes casos o seu controlo pela utilização de conservantes (Guerrero & Chabela, 2000).

#### **1.4.2 Indicadores de segurança**

Indicador de segurança tem por objectivo definir a conformidade da ausência de um potencial agente patogénico num lote de géneros alimentícios a serem colocados no mercado. Um microrganismo ou grupo de microrganismos indicadores deve ser facil-

mente detetável e se possível quantificado. O alimento deve estar livre dos agentes patogénicos ou a sua presença até ao final do seu período de vida deve ser em quantidade mínima. Portanto, avaliar a segurança dos alimentos requer a conjugação de diversos indicadores (Leão, 2008).

#### **1.4.2.1 *Salmonella* spp**

A *Salmonella* spp. é um microrganismo amplamente difundido na natureza, tem no trato gastro intestinal do homem e dos animais seus principais reservatórios naturais. Barros *et al.*, (2002) confirmam que os mais variados tipos de alimentos estão envolvidos em surtos de infeção alimentar com *Salmonella*, mas principalmente, o encontramos em alimentos de origem animal, como por exemplo, em carnes de aves e seus derivados. O controlo da *Salmonella* spp., na avicultura envolve intervenções não só na indústria, mas também no campo, onde se procura reduzir o nível de microrganismos no conteúdo intestinal das aves. Mas, as boas práticas de preparação da carne de frango tanto na fase industrial quanto sejam pelos consumidores, são fundamentais para a prevenção da salmonelose. A contaminação de frangos por *Salmonella* spp. pode estar relacionada com as operações de abate e processamento das carcaças, também contribuem para a disseminação e multiplicação de salmonelas que pode ocorrer por meio da água usada no processo de abate e depenagem. Outro fator de grande risco de contaminação está na contaminação cruzada, por meio de equipamentos e utensílios contaminados, no manuseio inadequado durante o corte, na fase de evisceração e no acondicionamento que normalmente é realizado à temperatura ambiente, até à sua comercialização (Cardoso *et al.*, 2008).

#### **1.4.2.2 *Listeria monocytogenes***

*L. monocytogenes* é uma bactéria patogénica que pode provocar diversas complicações em indivíduos vulneráveis, pertencentes ao um grupo de risco, tais como mulheres grávidas, idosos e crianças. É transmitida através de alimentos contaminados e provoca uma infeção de nome listeriose. Pode multiplicar-se sob refrigeração a temperaturas  $\leq 5$  °C, psicrotrófica, o que torna um desafio o seu controle na cadeia de produção alimentar, principalmente em alimentos “prontos para consumo”, minimamente processados refrigerados. É sensível a altas temperaturas e resiste a condições ambientais adversas como baixo pH e altas concentrações de cloreto de sódio (Rocourt & Buchrieser, 2007). Alguns alimentos possuem características que permitem que o microrganismo possa multiplicar-se e atingir contagens elevadas. Em alimentos que oferecem condições para a multiplicação de *L. monocytogenes*, podendo atingir contagens de até 100 ufc/g, durante o armazenamento em refrigeração prolongada (Ilsi, 2005).

### 1.5 Metodologia do sistema HACCP

O *Codex Alimentarius* no âmbito alimentar define “Segurança dos Alimentos” como sendo a garantia de que os alimentos não provocarão danos à saúde do consumidor, quando preparados ou quando são ingeridos, de acordo com a sua utilização prevista.

Neste sentido, quer os governos quer a indústria preocuparam-se em garantir níveis elevados de segurança dos alimentos fornecidos à população. O consumidor espera assim que os produtos alimentares oferecidos se apresentem seguros, o que significa estarem isentos de microrganismos patogénicos, de resíduos de produtos químicos, ou de qualquer outro tipo de contaminante. Contudo, o risco zero não existe, apesar das precauções sugeridas pela FAO/OMS (*Food and Agricultural Organization of the United Nations/ Organização Mundial de Saúde*), das medidas preventivas implementadas na cadeia alimentar seguindo requisitos legais ou voluntários com a aplicação das normas ISO (*International Standardization Organization*) e do HACCP (*Hazard Analysis of Critical Control Point*) (Moll & Moll, 2006).

Um controlo inadequado ao longo de uma cadeia de produção de alimentos, pode originar falhas quer em pequenos produtores ou grandes indústrias, que se podem refletir num grande perigo de saúde pública. Nos dias de hoje a preocupação com a qualidade do que se consome vem aumentando exponencialmente, o consumidor está cada dia mais interessado em saber o que coloca na sua mesa e tem confiança na gestão de controlo e segurança dos alimentos. Contudo para além da segurança dos alimentos que deverá estar sempre garantida o conceito de qualidade também deve estar presente. Segundo Wurlitzer (2007), o conceito de qualidade de alimentos, na visão do consumidor, nada mais é do que a satisfação de características como sabor, aroma, aparência, embalagem, preço e disponibilidade.

Uma das estratégias praticadas pelas organizações como um diferencial competitivo perante o setor alimentar, é a aplicação de ferramentas de gestão de qualidade nos seus sistemas, produtos e serviços. A Organização Internacional de Normatização (ISO) publicou em 2005 a norma ISO 22000:2005 para a certificação de sistemas de gestão da segurança de alimentos. Esta norma tendo como base a metodologia HACCP, tem como objetivo demonstrar a capacidade de a organização controlar os perigos, em todas as fases de fabrico de alimentos e fornecer produtos finais seguros, que atendam aos requisitos dos clientes bem como aos requisitos regulamentares. O HACCP consiste, então, na identificação e monitorização de perigos específicos que podem afetar de forma prejudicial a segurança dos produtos alimentares (Pinto & Neves, 2010).

O sistema HACCP foi desenvolvido para facilitar a identificação e controlar os pontos de controlo de perigos numa cadeia de fabrico alimentar, que conta com um programa para implementação e gestão de forma eficiente. Antes da aplicação de um sistema HACCP



devem estar implementados, e em pleno funcionamento, os pré-requisitos que são definidos como os procedimentos universais, que controlam as condições ambientais de um estabelecimento alimentar, contribuindo para uma melhor segurança dos produtos (Van Schothorst, 2004).

#### **1.5.1 Programas de Pré-Requisitos**

Os programas de pré-requisitos correspondem a um conjunto de medidas de controlo, com o objetivo de garantirem a segurança dos alimentos e concebidas para controlar os perigos de um modo geral (DG-SANCO, 2005). Os programas devem ser aplicados de forma flexível, de modo a permitirem a utilização dos métodos em qualquer das fases de produção, tendo em conta a dimensão e as condições estruturais existentes, contudo, a flexibilidade não deve comprometer os objetivos do sistema de higiene dos géneros alimentícios. Devem fornecer condições básicas e descrever atividades necessárias para manter um ambiente higiénico ao longo da cadeia produtiva de alimentos adequados para a produção, manuseio e provisão de produtos finais seguros e de alimento seguro para o consumo humano (Regulamento (CE) nº 853/2004).

Para se implementarem programas que garantam a segurança dos alimentos nos estabelecimentos (baseados nos princípios do HACCP), deverá considerar-se:

- Conceção e Manutenção das instalações e equipamentos;
- Higiene pessoal de todos os manipuladores de alimentos;
- Higiene das instalações e equipamentos;
- Controlo da água de abastecimento;
- Rastreabilidade;
- Seleção e Controlo de fornecedores;
- Gestão de resíduos;
- Formação;
- Manutenção da cadeia de frio.

Após a implementação e cumprimento dos pré-requisitos, pode-se avançar com a implementação do sistema HACCP, cujo êxito reside na sua flexibilidade para a adequação à realidade de cada empresa (Van Schothorst, 2004).

De acordo com Miranda (2012), todos os programas de pré-requisitos devem ser estabelecidos e geridos separadamente do plano HACCP, no entanto, são incorporados num plano HACCP, como por exemplo, os procedimentos de manutenção preventiva de equipamento evitam falhas não esperadas e a perda de produção.

### **1.5.2 Programa de Pré-requisitos Operacionais (PPRO)**

O Programa de Pré-Requisitos Operacionais resulta da análise de perigos e abrange a gestão das medidas de controlo. Estes programas gerem as medidas de controlo que controlam perigos que não são geridos pelo HACCP. Assim, após a análise de perigos, a determinação de níveis de aceitação e seleção das medidas de controlo associadas aos perigos identificados, há que estabelecer se serão geridos através de programas de pré-requisitos operacionais ou pelo sistema HACCP (Marques, 2011).

Após o estudo de que resulta o estabelecimento dos PPROs e do plano HACCP, e uma vez que durante as etapas que a eles conduzem, pode ser identificada a necessidade de introduzir alterações nos processos/produtos, a organização deve assegurar que a documentação resultante das etapas preliminares se mantenha constantemente atualizada, nomeadamente no que respeita à descrição dos produtos, utilização prevista, fluxogramas, etapas do processo, e medidas de controlo (Paiva & Meneses, 2007).

### **1.5.3 Implementação do sistema HACCP**

Para dar prática e seguimento à implementação do sistema HACCP, o primeiro passo é a formação de uma equipa HACCP/Segurança Alimentar. A equipa é responsável pela elaboração, implementação e manutenção do sistema na empresa. A equipa deve ser multidisciplinar, ou seja, formada por técnicos especialistas em várias áreas relevantes para o processamento industrial dos alimentos, como por exemplo: microbiologia, química, qualidade, produção, manutenção e tecnologia. A presença de pelo menos uma pessoa diretamente ligada à produção na equipa é extremamente importante, para que a implementação do sistema HACCP seja realizada de forma correta, uma vez que esta é quem conhece melhor o processo produtivo. No caso de a empresa não dispor de pessoas com formação ou conhecimentos nas áreas supracitadas, deverá recorrer a peritos externos (NP EN ISO 22000:2005). À equipa de Segurança Alimentar compete as seguintes ações:

- Elaborar o plano de HACCP;
- Supervisionar o funcionamento do sistema;
- Manter a documentação (registos do sistema);
- Elaborar informação periódica para a direção;
- Modificar e rever o plano;
- Motivar e formar o pessoal envolvido;
- Agendar e conduzir auditorias internas.

Para uma correta aplicação do sistema HACCP, é necessário conhecer as definições e o significado exato de seus princípios que constituem o conjunto mínimo de atividades ou ações a serem adotadas para que o alimento possa ser considerado seguro para o

consumo. A metodologia é lógica, ordenada e possui sete princípios, por meio dos quais pode-se controlar os perigos para a saúde dos consumidores (Felix *et al.*, 2003).

Segundo o *Codex Alimentarius*, o sistema HACCP consiste em aplicar os sete seguintes princípios:

1. Identificar os perigos e analisar os riscos de severidade e probabilidade de ocorrência.
2. Determinar os pontos críticos de controle necessários para controlar os perigos identificados.
3. Especificar os limites críticos para garantir que a operação está sob controle (PCC).
4. Estabelecer e implementar a monitorização do sistema.
5. Executar as ações corretivas quando os limites críticos forem atingidos.
6. Verificar o sistema.
7. Manter registros.

#### **1.5.4 Identificação de perigos e medidas preventivas**

Esta fase pressupõe que se faça uma análise extensiva para a identificação dos potenciais perigos associados a cada fase do processo, desde a receção das matérias-primas até ao produto final. Após a identificação deve se feita a sua análise, avaliando a probabilidade de ocorrência e a severidade do perigo identificado, mas também a análise de medidas preventivas estabelecidas para o seu controlo (Batista *et al.*, 2003).

##### **1.5.4.1 Tipos de perigos**

A identificação de potenciais perigos tem por base o fluxograma, os requisitos dos produtos, dos clientes e da cadeia alimentar, a legislação e a documentação externa relevante. Todos os perigos expectáveis são identificados e descritos, sendo que para cada perigo identificado, físico, químico, biológico e alergénio, é determinado o nível de aceitação no produto acabado (Baptista & Saraiva, 2003).

Perigo físico é qualquer material físico que normalmente não é encontrado no alimento e quando está presente pode causar danos ao consumidor, este perigo inclui como por exemplo, metal, vidro, pedras, plástico, madeira, papel, cabelos, entre outros. Este tipo de contaminação pode surgir de várias situações, como por exemplo de práticas deficientes ou insuficientes durante o processo produtivo, de matérias-primas contaminadas ou até mesmo de procedimentos errados ou colaboradores sem formação ou com formação inadequada e insuficiente. Perigos químicos podem agrupar-se em duas categorias, nomeadamente os que estão presentes nos alimentos, como as micotoxinas, histamina, alcaloides de pirrolidizina, entre outros, ou os produtos químicos que são adicio-

nados de forma acidental ou intencionalmente nos alimentos, como resíduos de pesticidas, fertilizantes, fungicidas, metais pesados, hormonas, antibióticos, agentes de limpeza/desinfecção e lubrificantes e entre outros. Os Perigos biológicos de origem alimentar incluem organismos como bactérias, fungos, vírus e parasitas. Estes microrganismos podem surgir naturalmente ou por contaminação externa, estando frequentemente associados a manipuladores e produtos crus contaminados (Guedes, 2006).

Recentemente um novo perigo foi adicionado à lista, os alergénios são responsáveis por alergias alimentares e constituem um importante problema para a saúde pública, devendo os consumidores sensíveis evitar a ingestão de alergénios. Contudo, nem sempre os alergénios estão indicados, ou são explícitos, na rotulagem dos géneros alimentícios, podendo ainda subsistir contaminações cruzadas de substâncias alergénicas de um alimento para outro, nomeadamente mediante más práticas de fabrico (Añibarro *et al.*, 2007).

De acordo com ASAE (2016) na Tabela 1, são apresentados perigos associados ao consumo de carne de aves, e produtos cárneos, e as potenciais doenças associadas.

Tabela 1: Perigos associados à carne de aves e produtos cárneos.

Tipos de Perigos	Exemplos de perigos	Potenciais doenças
Biológicos	<i>Salmonella</i> spp. <i>Campylobacter jejuni</i>	Salmonelose, campilobacteriose
Químicos	Mercúrio, cádmio e chumbo, dioxinas, policlorobifenilos (PCB)	Cancro, malformações congénitas, partos prematuros, alterações do sistema imunitário, doenças degenerativas do sistema nervoso, alterações hormonais, disfunção ao nível de diversos órgãos, alterações de fertilidade, doenças osteomusculares
Físicos	Ossos, espinhas, vidros, metal, pedras	-
Nutricionais	Adição de sal, enchidos e carnes gordas	Doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e alergias.

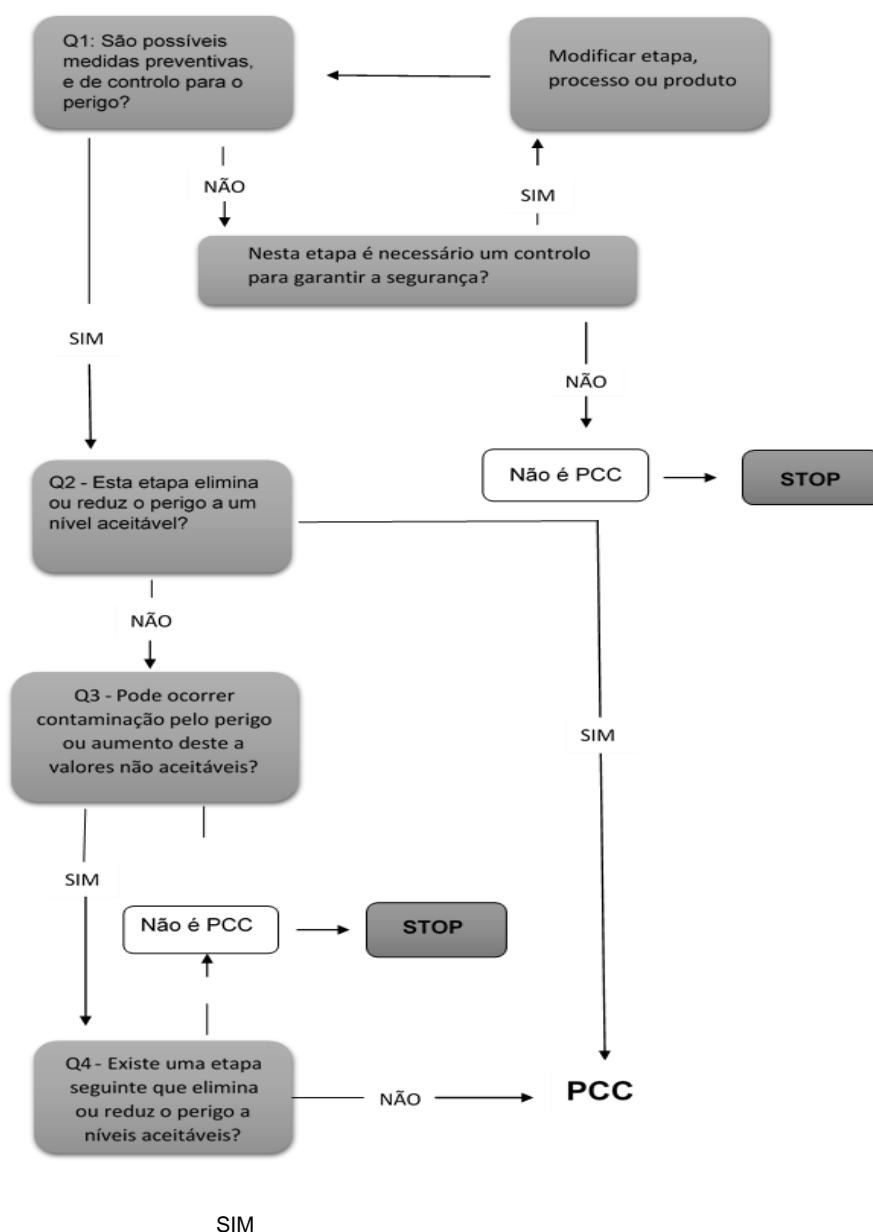
#### 1.5.4.2 Árvore de Decisão e identificação de pontos críticos de controlo

Uma vez identificados os perigos, tendo em conta o conhecimento das suas possíveis causas e dos pontos de contaminação, podem decidir-se as respetivas medidas preventivas e de controlo. Ao atingir esta etapa a equipa de HACCP deve ter uma lista completa dos perigos e suas fontes de contaminação e uma lista completa de ações preventi-

vas. A Árvore de Decisão (Figura 1), através de um conjunto de questões leva-nos a considerar todos os perigos. Os PCCs localizam-se em qualquer ponto onde os perigos devam ser reduzidos ou eliminados para valores que não ponham em causa a segurança alimentar. Estes devem ser descritos e documentados detalhadamente e devem ser usados com o propósito de alcançar a produção de alimentos inócuos (Pinto & Neves, 2010).

Recomendada pelo *Codex Alimentarius*, a aplicação da Árvore de Decisão deve ser flexível para adequação ao tipo de operação a analisar. Assim esta árvore de decisão deve ser usada como um guia e pode eventualmente não ser aplicável a todas as situações, podendo ser usadas outras abordagens para a identificação dos PCCs.

Figura 1: Árvore de Decisão *Codex Alimentarius* (Duarte, 2010).



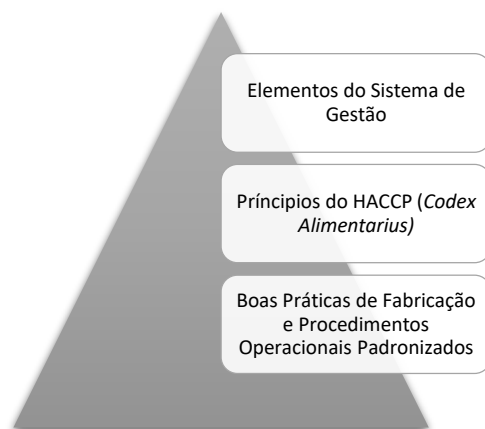
## 1.6 Sistemas de Gestão da Segurança dos Alimentos

As empresas do setor alimentar têm por obrigação gerir perigos, demonstrar responsabilidade corporativa e cumprir as exigências legais e de clientes, como uma forma de sobressair no mercado e se manter sempre competitiva, cabe à empresa proteger a sua reputação e proteger a sua marca (Rossiter, 2008).

Os sistemas de segurança de alimentos têm a necessidade de considerar não apenas regulamentos básicos, tais como as condições higiénicas para a preparação de alimentos, mas também uma abordagem sistemática de controlo de alimentos e perigos envolvidos na sua cadeia de produção, garantindo assim a segurança do alimento para o consumidor. São desenvolvidos planos para gerir potenciais crises com produtos, mantidos registos de produção e são traçadas as ações para retiradas de mercado. (BSI, 2008).

Diante disto, de acordo com Rossiter, (2008), observa-se que a segurança da produção de alimentos é um assunto de maior importância na cadeia de fornecedores da indústria de alimentos. Um elo da cadeia que se torne frágil pode resultar em alimentos não seguros. Apesar do grande impacto positivo das Boas Práticas de Fabrico e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo, não existia ainda uma norma internacional que tratasse de um sistema de gestão da segurança de alimentos até que, de acordo com Alvarenga (2011), houve a publicação da norma ISO 22000 – *Food Safety Management Systems – Requirements for any organization in the food chain* (Figura 2).

Figura 2: Organização do sistema de gestão (adaptado de CFPSA, 2016)



### 1.6.1 ISO 22000:2005

A Norma internacional para Sistemas de Gestão da Segurança dos Alimentos ISO 22000:2005, é aplicável a qualquer organização que opere na cadeia alimentar, e também a outras organizações relacionadas com a indústria alimentar, nomeadamente pro-

dutores de equipamento para a indústria, material de embalagem, agentes de limpeza, aditivos e ingredientes e fornecedores de serviços.

Esta norma permite às organizações demonstrarem a sua capacidade para controlar os perigos e fornecer produtos finais seguros, que cumpram não só os requisitos acordados com os clientes, como os requisitos estatutários e regulamentares em matéria de segurança alimentar.

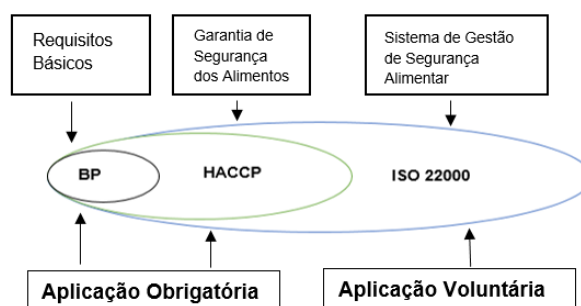
Com a combinação dos elementos chave (Figura 3), entre os quais a comunicação interativa, gestão do sistema, programas de pré-requisitos e princípios HACCP (NP EN ISO 22000:2005), é permitindo assegurar que os produtos são seguros ao longo da cadeia alimentar até ao consumidor final.

Figura 3: Elementos chave dos sistemas de gestão da segurança alimentar – NP EN ISO 22000



A implementação de um sistema de gestão da segurança dos alimentos é uma opção que cabe à gestão de topo. No entanto, muitas vezes é o cliente da organização que, de certa forma, força à implementação de sistemas não obrigatórios por lei, levando assim a serem criados mecanismos de gestão interna que evidenciem o cumprimento dos vários requisitos de segurança dos alimentos. A Figura 4 mostra os sistemas de segurança alimentar de aplicação obrigatória ou voluntária (Marques, 2011).

Figura 4: Aplicação de sistemas de segurança dos alimentos



A metodologia *Plan-Do-Check-Act* (PDCA) (Figura 5), também aplicada à ISO 22000:2005, tem como objetivo a melhoria contínua do sistema de gestão. Cada vez que um problema é identificado e solucionado, o sistema passa para um patamar superior de qualidade. O ciclo também pode ser usado para induzir melhoria, ou seja, melhorar as diretrizes de controlo. Neste caso, na etapa inicial planeia-se uma meta a ser alcançada e um plano de ação para atingi-la, a ação é executada segundo a nova diretriz e é feita a verificação da efetividade do cumprimento da meta. Em caso do não cumprimento da meta, volta-se à etapa inicial e um novo método deve ser planeado (Bueno *et al.*, 2013).

Figura 5: Ciclo de melhoria continua (Bueno *et al.*, 2013)

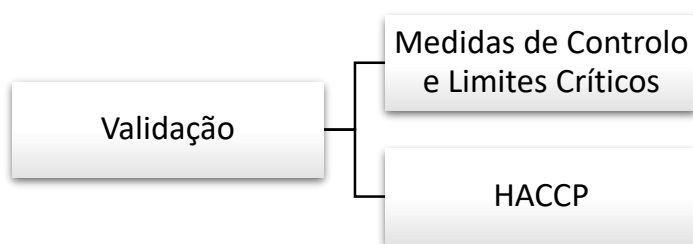


### 1.6.2 Validação de medidas de controlo

A validação é definida pelo *International Commission on Microbiological Specifications for Food* (ICMSF) como complemento da verificação. Tem como foco avaliar as etapas dos processos de fabrico com o intuito de determinar se o plano HACCP controla efetivamente todos os perigos, ou seja, a validação é o processo de demonstração de que o sistema HACCP, tal como foi planeado, consegue controlar adequadamente os perigos identificados (ICMSF, 2002). A validação pode apresentar duas vertentes distintas (Figura 6): por uma lado a validação das medidas de controlo e limites críticos, e por outro a validação do sistema HACCP (Sadia, 2009).



Figura 6: Vertentes da validação (Sadia, 2009)



A informação técnica ou científica necessária e relevante para se avançar com um processo da validação de medidas de controlo inclui literatura técnica ou científica, estudos prévios de validação ou o conhecimento histórico da performance da medida de controlo. Esta informação inclui ainda orientações governamentais, normas, referenciais de Boas Práticas de Higiene e medidas de controlo de HACCP (FAO/WHO, 2008).

Se o resultado da validação comprovar que alguma das medidas de controlo, não forem confirmadas, estas devem ser modificadas e reavaliadas. Idealmente, os processos de validação devem ser efetuados antes das medidas de controlo serem implementadas. O ato de validação é realizado no momento em que uma medida de controlo e/ou um sistema de segurança são delineados, ou quando alterações nesse sistema levam a que seja necessária uma revalidação (FAO/WHO, 2008).

O método de verificação consiste nas atividades que, em conjunto com a monitorização, confirmam se o sistema opera de acordo com o programado. A verificação é a confirmação, através de evidência objetiva, de que os requisitos especificados do plano foram cumpridos (NP EN ISO 9000:2005; Paiva & Menezes, 2007). A verificação passa pela aplicação de métodos, procedimentos e testes para determinar se uma medida de controlo está ou tem estado a funcionar como previsto (*Codex Alimentarius*, 2008).

#### **1.6.2.1 Simulações das condições validadas**

Por vezes, para a validação de determinadas condições, há necessidade de planejar testes laboratoriais que reproduzam as condições do processo, ou ensaios industriais de determinados aspetos de um sistema de processamento de alimentos. Estes testes podem envolver o alimento, meios de cultura e todos os outros materiais que possam ser necessários para a realização de um estudo de validação.

Os testes realizados no ambiente real de processamento podem fornecer uma ideia mais precisa da realidade; no entanto, isto requer um maior cuidado no processo de validação, pois em determinadas fases não convém introduzir fatores que possam trazer algum tipo de perigo para o ambiente fabril. Por exemplo, pode-se recorrer à utilização

de microrganismos de substituição para aqueles que são patogénicos na realização dos testes de validação, uma vez que os microrganismos potencialmente patogénicos nunca devem ser introduzidos na unidade de produção dos alimentos ou no ambiente de processamento para o propósito de validação de um processo (ICMSF, 2002; FAO/WHO, 2008).

A validação poderá ser limitada a um laboratório ou estendida ao ambiente fabril, se for necessário. A recolha de dados físicos, químicos e biológicos obtidos durante as condições normais de operação convém que seja numa quantidade considerável, pois quanto maior o número de informações recolhidas melhor se compreendem os casos de validações (ICMSF, 2002).

## **2 Objetivos e justificação**

Este trabalho teve como principais objetivos a verificação de um pré-requisito e a validação de medidas de controlo referentes ao programa de pré-requisitos operacionais (PPRO) e pontos críticos de controlo (PCC).

Relativamente à verificação do pré-requisito, esta consistiu no estudo da eficácia do programa de higienização utilizado na tábua de corte de peito de frango na sala de desmancha de frango ao longo de um dia de trabalho.

Para validação do PPRO relativo à temperatura da caixa de transporte do camião frigorífico utilizado no transporte de produtos refrigerados e ultracongelados, foi efetuado o estudo da temperatura, com recurso a *Data Logger*, quer no produto transportado quer no interior da caixa de transporte.

Quanto à validação dos PCCs cozedura e arrefecimento rápido de fiambre de aves, esta consistiu na verificação das temperaturas no centro térmico do produto e na realização de análises microbiológicas.

## **3 Materiais e Métodos**

### **3.1 Descrição da empresa**

A Empresa X tem atualmente o seu trabalho direcionado para a comercialização de carne de aves e produtos transformados à base de carnes de aves, tendo alcançado um grande reconhecimento por parte dos consumidores com os seus produtos de frango e peru. Esta empresa foi fundada em meados dos anos 60, sendo pioneira no setor de processamento de carne de aves, já na década de 90 foi adquirida por um grupo de grande prestígio nacional, que conta com uma vasta gama de empresas tanto no setor agroalimentar como em outras vertentes. O grupo encontra-se completamente verticalizado, pois conta com uma sequência de atividades, desde a produção de matérias-

primas (rações), produção avícola, abate de aves indo até à produção de transformados avícolas e distribuição.

Esta unidade fabril foi certificada em 2004 pelo sistema HACCP DS 3027 E:2002, em 2008 o seu sistema de segurança alimentar passou a ser organizado de acordo com a Norma ISO 22000:2005. Em cada ano tem alcançado melhorias contínuas para manter o nível de excelência e a qualidade dos seus variados produtos. Para garantia e maior segurança dos produtos os seus colaboradores estão sempre em formação para sua própria melhoria, cumprindo as regras de higiene e segurança no trabalho.

A Empresa X tem como grande objetivo garantir a qualidade e a segurança dos alimentos, transmitir confiança ao consumidor e tornar-se um dos maiores fornecedores de produtos à base de carne de aves das grandes superfícies comerciais do país.

### **3.2 Caso1: Estudo da evolução das contagens microbianas em frango desmanchado e numa superfície de contacto ao longo de um dia de trabalho**

Para este estudo, foram realizados seis ensaios diferentes durante 7 meses. Para tal, foram recolhidas amostras com o auxílio de uma zaragatoa da superfície de uma tábua de polietileno, usada como base para o corte do peito de frango. Esta superfície foi escolhida por facilitar o estudo devido ao processo de higienização e facilidade de recolha de zaragatoas. Em simultâneo foram recolhidos peito de frango que entravam em contacto directo com a superfície estudada para a realização de análises microbiológicas com o objetivo de avaliar o impacto da superfície de trabalho na contaminação do produto. Os ensaios decorreram durante um dia de trabalho, todas as amostras foram recolhidas em triplicado com a frequência descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Frequência de recolha de amostras ao longo do dia de trabalho.

Hora	Superfície A	Produto A	Superfície B	Produto B
7:00	X	X	-	-
10:00	X	-	-	-
12:00	X	-	-	-
13:00	X	X	X	X
15:00	X	-	X	-
17:00	X	X	X	X

**Superfície A:** Tábua de corte de peito de frango sem higienização intermédia.

**Superfície B:** Tábua de corte de peito de frango higienizada a meio do dia de trabalho.

**Produto A:** Peito de frango preparado na tábua A.

**Produto B:** Peito de frango preparado na tábua B.

Os horários para a recolhas das amostras foram definidos de acordo com a hora de início e de fim dos trabalhos realizados na linha de desmancha de frango evitando paragens de produção.

Os microrganismos analisados foram: aeróbios totais a 30° C, coliformes totais, bactéria ácido-lácticas, *Escherichia coli*, bolores e leveduras, *Staphylococcus* coagulase-negativa e *L. monocytogenes*. No caso particular de *L. monocytogenes*, as análises foram efetuada por laboratório externo com método acreditado.

Para definir os microrganismos que seriam avaliados, efetuou-se uma caracterização prévia da microbiota presente nas superfícies amostradas. A contagem de aeróbios totais a 30° C foi efetuada para estimar o nível de contaminação total na superfície e no produto. As contagens de coliformes totais e *Escherichia coli*, foram efetuadas uma vez que constam no Regulamento (CE) N° 2073/2005.

Para que fosse possível a comparação entre as superfícies A e B, foi escolhido o período entre as 12 e 13 horas para a execução da higienização intermédia. Para tal, foi seguido o plano de higienização vigente na empresa X, com duração total de uma hora, compreendendo a limpeza para a eliminação do resíduo grosso, o enxaguamento, a desinfecção durante 20 minutos com desinfetante alcalino e o enxaguamento final.

### **3.3 Análise microbiológica**

#### **3.3.1 Colheita e preparação de amostras de superfície**

Na superfície em estudo, efetuou-se zaragatoa a 100cm<sup>2</sup> (ISO/DIS 18593:2004) que foi colocada num tubo contendo 9ml de solução de Triptona sal (VWR, Itália) e homogeneizado num aparelho vórtex (SBS, Espanha) durante 10 segundos. A partir desta suspensão inicial efetuaram-se diluições decimais, também com a solução de triptona sal conforme a Norma Portuguesa 3005 (1985).

#### **3.3.2 Colheita e preparação de amostras de frango**

O peito de frango foi recolhido e acondicionado em saco esterilizado sendo transportado para o laboratório em refrigeração e de imediato analisado.

Foram recolhidas aleatoriamente pequenas porções da amostra até perfazer um total de 10 g, ao qual se adicionou 90 ml de uma solução de Triptona sal (VWR, Itália), homogeneizando-se a mistura num Stomacher Lab-Blender 400 (Seward, Inglaterra) durante cerca de 30 segundos. A amostragem foi efectuada em triplicado. A partir desta suspensão inicial efetuaram-se diluições decimais, também com a solução de Triptona sal, conforme a Norma Portuguesa 3005 (1985).

### **3.3.3 Contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C**

A contagem dos microrganismos aeróbios totais a 30 °C, foi efectuada por incorporação de 1 ml de inóculo de cada uma das diluições consideradas convenientes em meio PCA – Plate Count Agar (VWR, Itália). A contagem de unidades formadoras de colónias foi realizada após incubação a 30 °C  $\pm$  1 °C durante 72 horas  $\pm$  3 horas. Os resultados foram expressos em log ufc/g e log ufc/100cm<sup>2</sup>, de acordo com a norma ISO 4833-1:2013.

### **3.3.4 Contagem de coliformes totais**

Para a contagem de coliformes totais, procedeu-se á incorporação de 1 ml de inóculo de cada uma das diluições consideradas convenientes em meio VRBL – Violet Red Bile Lactose (VWR, Itália). A contagem foi realizada após incubação das placas inoculadas a 37°C  $\pm$  1 °C durante 24 horas  $\pm$  3 horas. Os resultados foram expressos em log ufc/g e log ufc/100cm<sup>2</sup>, de acordo com a norma ISO 4832:2006.

### **3.3.5 Contagem de *Escherichia coli***

Para a contagem de *E. coli* realizou-se uma sementeira por incorporação de 1 ml de inóculo de cada uma das diluições consideradas, em meio de cultura TBX – Tryptone Bile X-glucuronide (VWR, Espanha). A contagem das colónias de *E. coli* (colónias azuis claras) foi efetuada após incubação a 44,5°C  $\pm$  1 °C durante 18 a 24 horas. Os resultados foram expressos em log ufc/g e log ufc/100cm<sup>2</sup>, de acodo com a norma ISO 16649-2:2001.

### **3.3.6 Contagem de bactéria ácido-láticas**

Neste ensaio, a metodologia empregue foi a constante da Norma ISO 15214:1998. Esta contagem é efetuada inoculando 1 ml das diluições consideradas adequadas em meio MRS – Man, Rogosa and Sharpe Agar (VWR, Itália) por incorporação e com camada dupla. Após incubação a 30 °C  $\pm$  2 °C durante 72  $\pm$  4 horas, foi realizada a contagem das colónias características (pequenas, brancas e opacas) e os resultados expressos em log ufc/g e log ufc/100cm<sup>2</sup>, de acordo com a norma ISO 15214:1998.

### **3.3.7 Contagem de *Staphylococcus coagulase-negativa***

Para a contagem em placa de *Staphylococcus coagulase-negativa*, realizou-se sementeira por incorporação de 1 ml de inóculo de cada uma das diluições consideradas, em meio de cultura MSA- Manitol Salt Agar (Scharlau, Espanha) com gema de ovo (Scharlau, Espanha). A contagem de *Staphylococcus coagulase-negativa* foi efetuada após incubação a 37 °C  $\pm$  1 °C durante 48 horas considerando-se as colónias que apresenta-

ram cor rosa ou amarela (confirmando a redução do manitol). Os resultados foram expressos em log ufc/g e ufc/100cm<sup>2</sup>, de acordo com NP 4400-2:2002.

### **3.3.8 Contagem de bolores e leveduras**

Plaqueou-se 0,2 ml de cada diluição em cinco placas perfazendo o total de 1 ml, nas placas com o Meio DRBC - Gélose Dicloran Rose Bengale Cloranfenicol (VWR, Espanha) e espalhou-se o inóculo por toda a superfície com auxílio da alça de Drigalski (VWR, Itália). As placas foram incubadas à 25°C ± 1°C por 5 dias. Foi realizada a contagem das colónias características (pequenas, brancas e opacas) e os resultados expressos em log ufc/g e log ufc/100cm<sup>2</sup>, de acordo com a NP 3277-1.

### **3.3.9 Pesquisa e Contagem de *Listeria monocytogenes***

A contagem de *L. monocytogenes* foi realizada em laboratório externo com método acreditado, efectuados de acordo com ISO 11290-1:1996 e 11290-2:1998.

### **3.3.10 Caracterização e identificação de isolados**

A partir das contagens de microrganismos totais a 30°C obtidas em algumas das amostras avaliadas, foram repicadas colónias das últimas diluições para placas de meio Tryptone Glucose Agar (Sharlau, Espanha) e procedeu-se à sua caracterização fenotípica através dos testes de oxidase e catalase, juntamente com a realização de esfregaços para coloração Gram. A identificação dos isolados foi efectuada por meio de testes bioquímicos miniaturizados API®. Foram utilizados o API® Staph API® 20E e API® 50 CH (Biomerieux, França) seguindo as instruções da bula do laboratório fornecedor.

## **3.4 Teste de oxidase**

Por meio do teste de oxidase, foi possível distinguir os grupos de microrganismos presentes na superfície estudada, tendo como base a atividade da enzima citocromo-oxidase que catalisa a oxidação de um citocromo pelo oxigénio molecular com formação de água. A capacidade de as bactérias produzirem esta enzima foi determinado pela adição do reagente da oxidase (Biomerieux, França). Embeberam-se tiras de papel de filtro estéreis em reagente oxidase e, com o auxílio de uma ansa, picou-se uma colónia colocando-a em contacto com o reagente. O desenvolvimento de coloração rosa a violeta escuro na superfície do papel em um intervalo de 10 segundos é indicativo da produção de citocromo oxidase e representa uma prova positiva. Se não houver alteração da cor ou, se a superfície do papel de filtro apresentar uma coloração rosa ligeira num intervalo de 60 segundos é indicativa da ausência da atividade oxidase sendo considerada uma prova negativa (Schaad *et al.*, 2001).

### **3.5 Teste de catalase**

Através do teste de catalase, foi determinado se os microrganismos estudados têm a capacidade de produzirem a enzima catálase que degrada o peróxido de hidrogénio obtendo-se água e oxigénio. Assim, foi colocada uma colónia retirada do meio PCA – Plate Count Agar (VWR®, Itália) numa lâmina à qual se adicionou umas gotas de reagente catálase (ID-ASE, Biomerieux, França). Se a bactéria possuir a enzima catálase (catálase positiva) ocorre o desdobramento do peróxido de hidrogénio com libertação imediata de oxigénio cuja visualização se traduz em formação de bolhas de ar; a ausência deste borbulhar é uma prova negativa.

### **3.6 Coloração Gram**

Para realizar a técnica de coloração de Gram realizou-se um esfregaço a partir de uma colónia suas células bacterianas foram expostas à seguinte sequência: violeta de cristal corante primário, (Scharlau, Espanha), solução de iodo mordente, (Scharlau, Espanha); álcool agente descolorante, (Scharlau, Espanha) e fucsina agente contrastante, (Scharlau, Espanha). Para a observação utilizou-se um microscópio (Olympus, Inglaterra) com objetiva de imersão e ampliação 1000 x.

### **3.7 Identificação dos isolados por testes bioquímicos miniaturizados API®**

Para a identificação dos isolados por testes bioquímicos miniaturizados, API®, foram distribuídos nos alvéolos do fundo da caixa de incubação 5 ml de água destilada estéril para que pudesse criar uma atmosfera húmida e posteriormente colocou-se a galeria na caixa de incubação. Foi preparada uma suspensão bacteriana constituída por uma solução de Cloreto de Sódio (0.85%) (Biomérieux, França) onde foi ressuspensa em 5ml uma colónia de bactérias, sendo homogeneizada através da utilização de um vórtex (Fisher Bioblock Scientific, França). Os testes utilizados para a identificação dos isolados foram, API® 50CH, API® 20E e API® Staph (BioMérieux, França). Introduziu-se a suspensão nos tubos da galeria utilizando pipeta de Pasteur (para evitar formação de bolhas no fundo dos tubos). Para os testes CIT, VP e GEL encheu-se o tubo e cúpula, já para os outros testes, encheu-se apenas os tubos (e não as cúpulas). Para os testes ADH (Arginina), LDC (Lisina), ODC (Ornitina), H<sub>2</sub>S, URE (Ureia) criou-se uma anaerobiose enchendo a cúpula com óleo de parafina, após estes procedimentos fechou-se a caixa de incubação e incubou-se a 36° C ± 2° C durante 18-24 horas. Após a incubação, a leitura da galeria efectuou-se consultando o quadro de leitura.

Para o teste TDA (Tryptofano) adicionou-se 1 gota de reagente TDA, teste IND (Tryptofano) adicionou-se 1 gota de reagente JAMES, teste VP (Creatina piruvato de sódio): adicionou-se 1 gota dos reagentes VP 1 e VP 2, esperou-se, no mínimo, 10 minutos para visualizar a reacção. Adicionou-se 1 gota dos reagentes NIT (Nitrato de potássio) 1 e NIT

2 no tubo GLU, esperou-se 2 a 5 minutos, depois adicionou-se 2 a 3 mg de reagente Zn na cúpula GLU (D-Glucose), após 5 minutos foi possível observar sua reação.

Na ficha de resultados, os testes foram separados por grupos de três e um valor 1, 2 ou 4 é indicado para cada um. Atualmente a identificação é feita usando um programa informático de identificação (ex. apiweb, no caso da bioMérieux) ou catálogo analítico, onde se obtém a identificação do perfil numérico com sete algarismos, que é denominada de análise de índice de perfil (API®). O *kit* de teste API® consiste em testes de assimilação de elementos enzimáticos e compostos de carbono, cujo número varia dependendo do tipo de *kit* API® de ensaio utilizado.

### **3.8 Critérios para avaliação dos resultados microbiológicos**

Os critérios microbiológicos utilizados para a avaliação do frango desmanchado foram definidos pela empresa X com base na legislação actual e em referências bibliográficas, na ausência de critério legal, de acordo com a tabela D apresentada no Anexo I.

Os critérios microbiológicos utilizados para a avaliação de superfícies em processo foram estabelecidos tendo como base a literatura científica e também o histórico da empresa (Tabela E, do Anexo I).

### **3.9 Caso 2: Validação dos desvios de temperatura admissíveis para o camião frigorífico de transporte**

Para os ensaios relativos aos desvios de temperatura da caixa de transporte do camião frigorífico, foram considerados dois tipos de produtos, sendo eles: a) produto refrigerado – “miudezas em cuvette” - colocado numa palete contendo quatro caixas junto da restante carga transportada; b) produto ultracongelado – “*nuggets* de frango” - colocado numa palete com 12 caixas junto à restante carga transportada. Para o efeito, realizaram-se três circuitos de distribuição, de modo a simular o normal transporte dos produtos.

Foram preconizadas as piores situações possíveis, sendo os circuitos realizados nas seguintes situações: a) com o sistema de refrigeração ligado durante a ida do produto até um entreposto situado em Lisboa e b) com o sistema de refrigeração desligado ou programado com temperaturas não desejáveis na volta para a empresa situada em Loures. Os produtos utilizados em ambas as validações não estiveram fora do camião frigorífico durante o tempo de entrega dos restantes produtos ao cliente.

Foi colocado um *Data Logger* Testo 175 T1 (Testo, Alemanha), dentro da cuvette contendo o produto, devidamente acondicionado em caixa de transporte e junto à restante carga transportada, e um outro *Data Logger* Testo 175 T1 (Testo, Alemanha) junto à sonda de temperatura fixa do camião, para medição da temperatura interna do camião frigorífico durante o circuito de distribuição. A cuvette com “miudezas” foi escolhida por



ser o produto que requer temperatura de conservação inferior a 3° C e o mais suscetível de sofrer alterações devido às suas características. A cuvete com “*nuggets*” foi escolhida por se tratar de um produto que requer temperatura de conservação  $\leq -18^{\circ}\text{C}$  e mais suscetível de sofrer alterações devido às suas características. À saída do cliente, o *set point* da sonda de temperatura do camião foi colocado a  $-5^{\circ}\text{C}$ , de modo a tentar validar desvios acima dessa temperatura.

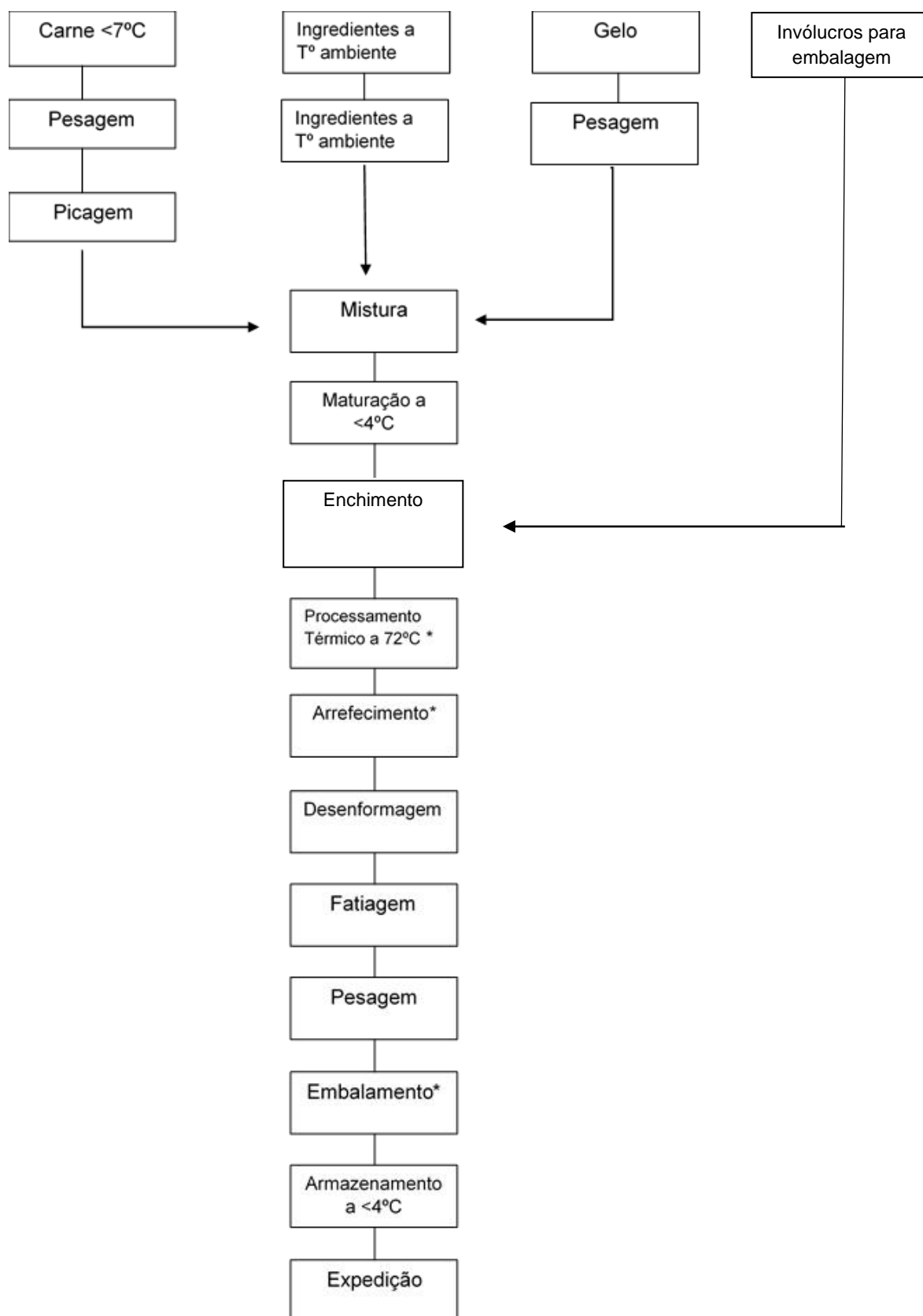
As temperaturas registadas foram medidas em intervalos de 10 minutos. Após o regresso do camião, foram recolhidos os *loggers* e extraídos os dados com programa Testo 175 T1 (Testo, Alemanha). Os dados foram posteriormente analisados e construídos os respetivos gráficos em *software* MS Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, EUA), sendo feita a comparação com os desvios de temperatura admissíveis definidos pela empresa.

Para a realização desta validação foram utilizados os valores limites expressos nas Instruções de Trabalho Geral (ITG) 20 que contempla os limites admissíveis para produtos refrigerados e ultracongelados e a ITG 32 que contempla valores referentes a limites de tolerância para temperaturas dos camiões frigoríficos (anexo 2).

### **3.10 Caso 3: Validação da eficácia do binómio tempo/temperatura da cozedura e arrefecimento de fiambre**

O processo de fabrico do fiambre inclui etapas que contemplam: picagem da carne e a mistura com aditivos e condimentos; breve maturação da massa a  $4^{\circ}\text{C}$ ; enchimento em invólucros e depois em formas de acordo com o formato pretendido; processamento térmico, com o intuito de que o centro térmico do produto atinja a temperatura ideal de  $72^{\circ}\text{C}$ ; duche para arrefecimento rápido, o qual deve ocorrer para evitar que os produtos sejam colocados diretamente numa câmara de refrigeração, dado que a água presente nas camadas mais superficiais do produto solidificaria, permanecendo quente o seu interior, com a concomitante formação de exsudado (Rodrigues, 2013); arrefecimento em câmara com temperatura controlada, até que o produto atinja  $10^{\circ}\text{C}$ ; desenformagem; fatiagem; embalagem; armazenamento; e expedição para cliente. Na Figura 7 é apresentado um diagrama de fluxo do fabrico do fiambre, elencando as fases com identificação de pontos críticos de controlo (identificados com \*).

Figura 7: Fluxograma do processo de fabrico de fiambre para fatiar



### 3.10.1 Monitorização da temperatura interna do fiambre durante a cozedura

A temperatura da cozedura do fiambre é monitorizada no *display* do equipamento de cozedura, que exibe a temperatura medida pela sonda inserida no centro térmico do produto durante o processo de cocção. Assim, quando a temperatura ideal é atingida é mantida pelo tempo necessário (Tabela 3); o processo de cozedura tem a duração total de 4 horas. As temperaturas no centro térmico dos produtos foram medidas e registadas de imediato após a abertura do equipamento de cozedura com o auxílio de um termómetro (Gourmet, Espanha), para confirmar a temperatura exibida no *display* e também que eram atingidos os limites críticos. Para validar a eficácia do binómio tempo/temperatura, foram posteriormente realizadas análises microbiológicas para confirmar a eliminação ou redução de microrganismos. Tanto o equipamento de cozedura quanto o termómetro utilizado foram calibrados pelo Instituto Superior de Qualidade (ISQ).

Na Tabela 3, apresentam-se os binómios tempo/temperatura recomendados pela University of Wisconsin (2013) e que são usados pela empresa.

Tabela 3: Binómios tempo/ temperatura de cozedura em função do tipo de produto (adaptado da empresa X).

Produto selecionado	Temperatura	Tempo
Fiambre do Peito de Peru	72º C	23 min e 50 seg
Fiambre da Perna de Peru	68º C	26 min e 20 seg

### 3.10.2 Monitorização do tempo e temperatura da câmara de arrefecimento

Após a etapa de cozedura, enquanto o fiambre ainda permanecia nas formas, foi inserida no centro térmico do produto uma sonda de penetração de um registador de temperatura Testo 175 T1 (Testo, Alemanha). Para esse efeito, foram selecionadas formas localizadas a meio dos carrinhos onde o fiambre permanecia durante o arrefecimento na câmara. A monitorização das temperaturas da câmara de arrefecimento foi efetuada com intervalos de 10 minutos. Procedeu-se à elaboração de gráficos no *software* Testo com base nos resultados obtidos.

Para a representação de dados, foi considerada a temperatura a partir do momento em que o fiambre atingia 65º C até 10º C, sendo esta fase considerada crítica, pois se o produto permanece por um longo período de tempo neste intervalo de temperatura, é possível que ocorra desenvolvimento microbiano, incluindo das formas esporuladas. Para ambos os casos desta validação, o arrefecimento teve um tempo total estimado de 16 horas.

### **3.10.3 Análise microbiológica de produtos cárneos submetidos a tratamento térmico e arrefecidos**

Para a validação da eficácia do tratamento térmico de fiambre de peru, foram analisados dois tipos diferentes de fiambre (fiambre do peito e da perna de peru), com o intuito de avaliar a sua conformidade microbiológica. Esta avaliação teve em conta todo o processo produtivo, tendo sido recolhidas amostras em diferentes fases do processo de fabrico.

A recolha das amostras foi efetuada na massa crua (resultante da mistura da carne picada com aditivos e condimentos), depois do processo de cozedura e após arrefecimento do produto. As amostras foram recolhidas em triplicado e avaliaram-se os resultados das amostras antes e após a cozedura e após arrefecimento rápido.

Os microrganismos analisados foram aeróbios totais a 30° C, coliformes totais, bactérias ácido-láticas (BAL), *E. coli*, bolores e leveduras e *L. monocytogenes* (neste caso último caso, a contagem foi efetuada por laboratório externo com método acreditado)

### **3.11 Análise estatística**

Todos os resultados obtidos no presente trabalho foram submetidos análise estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação). Para compilação dos resultados os dados foram digitados em *software* Excel versão 2016, e analisados posteriormente com o programa SPSS 23.0 (Statistical Package for Social Science) (Sampaio, 2002). A comparação das médias dos fatores estudados foi realizada com o modelo *One-way* ANOVA. Quando o valor foi significativo, recorreu-se ao teste de Tukey (95% de confiança) para testar comparações múltiplas. Na comparação entre horários de recolha de amostras, considerando as diferentes condições, utilizou-se o modelo *One-way* ANOVA para amostras independentes.

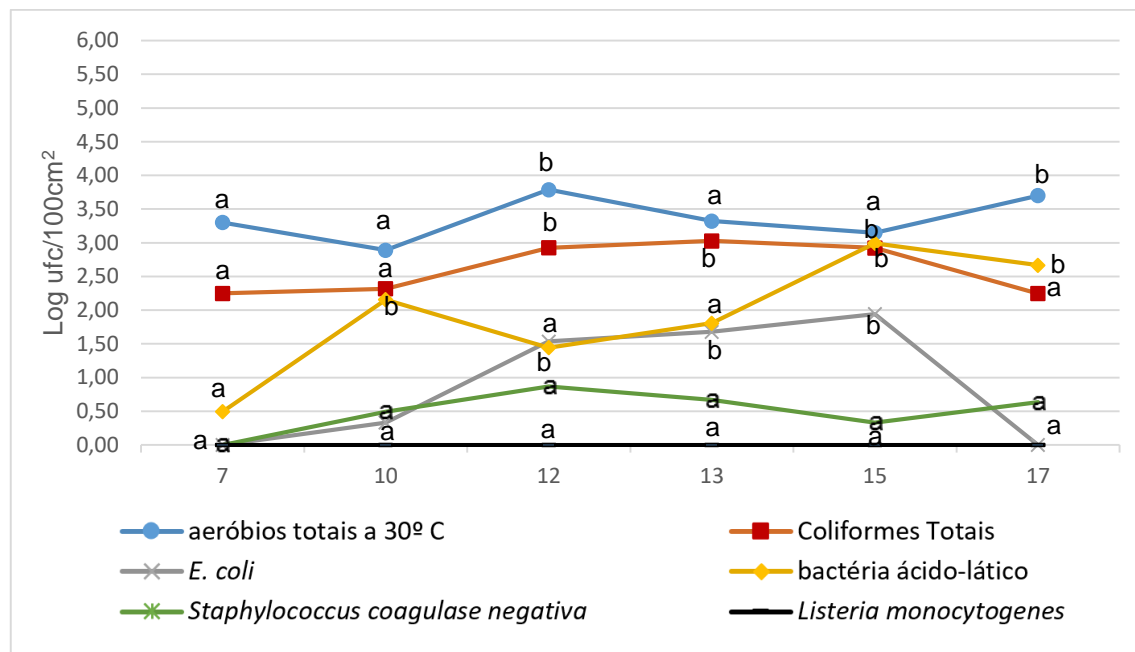
## **4 Resultados e Discussão**

### **4.1 Caso 1: Estudo da evolução das contagens microbianas em frango desmanchado e numa superfície de contacto ao longo de um dia de trabalho**

#### **4.1.1 Superfície A**

Na Figura 8 são apresentados os resultados do teor microbiológico na superfície A ao longo do dia de trabalho numa sala de desmancha de frango.

Figura 8: Representação da evolução das contagens microbianas ao longo do dia de trabalho na superfície A.



(a-b) As médias numa mesma linha, seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

A contagem de aeróbios totais a 30° C relativa à recolha efectuada às 7 horas da manhã (que inclui uma higienização anterior) foi de 3,30 log ufc/100cm<sup>2</sup>, o que se considerou não satisfatório quando comparado com os limites estabelecidos para superfícies limpas pela empresa (Anexo I, tabela C). Num estudo realizado por Aguiar (2006), considera-se que a presença de aeróbios totais a 30° C acima de limites considerados aceitáveis, indica falhas no processo de higienização, o que obriga à necessidade de maiores cuidados na realização dos métodos preconizados. As contagens de aeróbios totais a 30° C apresentaram um ligeiro aumento às 12 horas, com um valor de 3,79 log ufc/100cm<sup>2</sup>, apresentando uma descida às 15 horas, chegando ao valor de 2,59 log ufc/100cm<sup>2</sup>. No fim do dia de trabalho (17 horas) verificou-se uma nova subida no valor encontrado (3,7 log ufc/100cm<sup>2</sup>). Nesta superfície de trabalho, de um modo geral, obtiveram-se valores considerados aceitáveis quando comparados com os limites estabelecidos para este estudo (Anexo I, tabelas C e E).

Na superfície A, a contagem de coliformes totais que foi realizada às 7 horas encontravam-se fora do limite aceitável, 2,25 log ufc/100cm<sup>2</sup> e às 13 horas apresentou o valor mais elevado de 3,03 log ufc/100cm<sup>2</sup>. Rodrigues *et al.* (2013), também encontrou valores de até 4 log ufc/cm<sup>2</sup> para coliformes totais em superfícies em uso. Nas restantes momentos de recolha, os valores dos coliformes totais apresentaram-se dentro dos limites considerados aceitáveis para o presente estudo. Observou-se às 17 horas uma di-

minuição na contagem de coliformes totais, que se justifica pelo aumento das BAL, com a concomitante acidificação do meio.

A contagem de *E. coli* às 7 horas (com higienização anterior) apresentou um resultado satisfatório, o que poderá indicar que os teores encontrados de coliformes são decorrentes de contaminações sem origem fecal. O teor mais elevado de *E. coli* surgiu às 15 horas com o valor de 1,94 log ufc/100cm<sup>2</sup>. De acordo com os limites estabelecidos (Anexo I, tabela E), a superfície de trabalho A encontrava-se não satisfatória.

A contagem de BAL na superfície em estudo apresentou valores significativamente elevados às 15 horas (2,99 log ufc/100cm<sup>2</sup>) e às 17 horas (2,67 log ufc/100cm<sup>2</sup>), quando comparados com os restantes valores atingidos ao longo do dia.

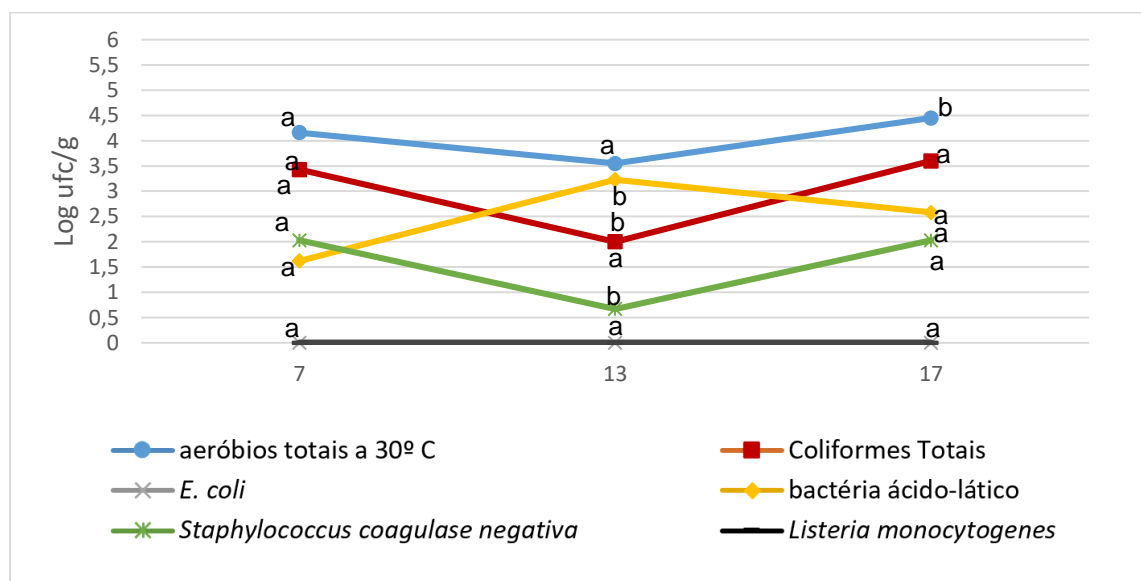
O processo de higienização realizado mostrou-se eficaz para os *Staphylococcus* coagulase-negativa, uma vez que a sua ausência foi evidenciada (figura 8) no início do período de trabalho (7 horas). A contagem efectuada às 12h (0,87 log ufc/100cm<sup>2</sup>) revelou um ligeiro aumento, não tendo sido possível a quantificação às 17 h, que representa o fim dos trabalhos na linha de desmancha.

Não foi detectada a presença de *L. monocytogenes* em nenhum dos momentos de recolha.

#### 4.1.2 Produto A

Para avaliar a condição microbiológica do produto que entrou em contacto com a superfície A, refletem-se na Figura 9 os valores das contagens microbianas realizadas em amostras de peito de frango recolhidas ao longo do dia de trabalho.

Figura 9: Representação da evolução das contagens da microbiota analisada no produto A.



(a-b) As médias numa mesma linha, seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

A contagem de aeróbios totais a 30° C (Figura 9) no produto A que manteve contacto com a superfície A, obtida ao longo de um dia de trabalho, foi considerada satisfatória de acordo com os limites estabelecidos para frango desmanchado pela empresa (Anexo I, tabela D). Este indicador apresentou uma pequena descida na contagem às 13 horas (3,55 log ufc/g) e posteriormente um aumento significativo às 17 horas (4,45 log ufc/g). Em relação à contagem de coliformes totais, registou-se uma diferença significativa entre os momentos de recolha, contudo o maior valor atingido foi de 3,60 log ufc/g às 17 horas, mas que não difere do valor encontrado no início do dia de trabalho. Este resultado foi semelhante a valores encontrados por Santos (2009), que obteve resultados em peito de frango que chegaram a 4,3 log ufc/g. O teor de coliformes totais no produto A avaliado às 7 e 17 horas encontrou-se aceitável e satisfatório às 13 horas (3,42 log ufc/g).

Não foi possível quantificar *E. coli* no produto A, independentemente do horário de colheita estabelecido, o que constitui um resultado satisfatório.

Relativamente às BAL, constatou-se uma diferença significativa nas contagens obtidas a meio do dia de trabalho (13 horas, 3,22 log ufc/g). Muck (2010) nos seus estudos sobre controlo bacteriano através de aditivos, observou que quando há um aumento das BAL, ocorre uma redução na contagem dos coliformes totais.

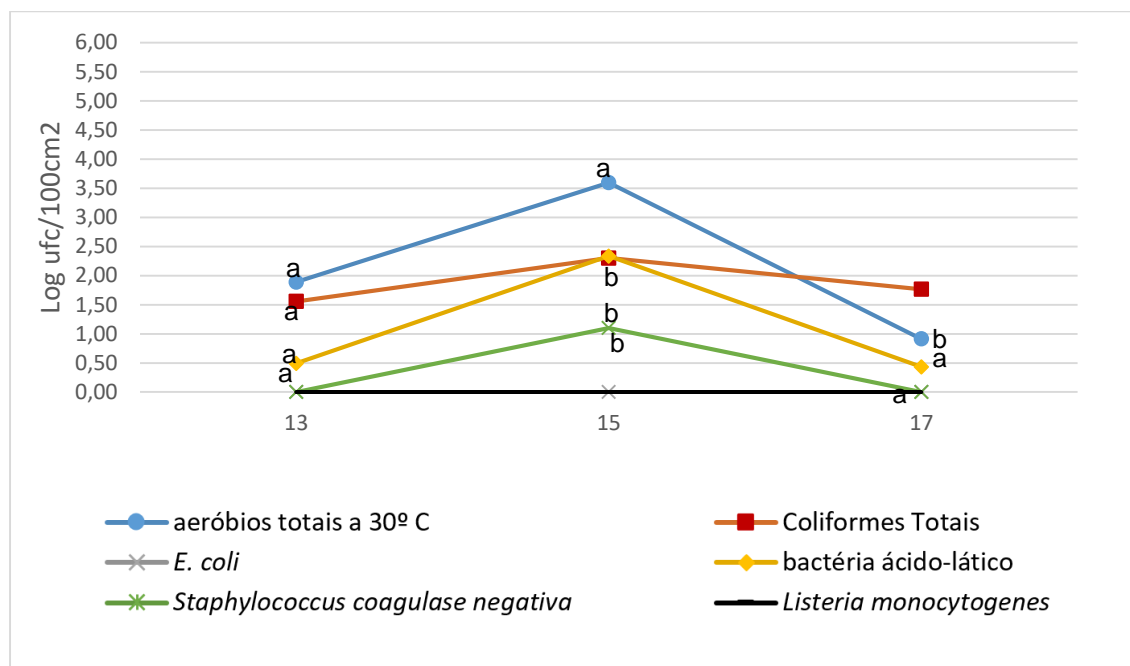
A contagem de *Staphylococcus* coagulase-negativa no produto A apresentou um valor de 2,03 log ufc/g às 7 horas, com uma descida acentuada às 13 horas (0,67 log ufc/g), voltando a 2,03 log ufc/g às 17 horas. O comportamento dos *Staphylococcus* coagulase-negativa e de outros indicadores estudados tanto no produto A como na superfície A poderiam estar relacionados com o facto de a linha ficar parada entre as 12 e 13 horas. Uma vez que não passam produtos nas superfícies de trabalho neste intervalo de tempo, não ocorre acumulação de matéria orgânica.

Não foi detectada a presença de *L. monocytogenes* em nenhum dos momentos de recolha.

#### **4.1.3 Superfície B**

Na Figura 10 são apresentados os resultados do teor microbiológico na superfície B ao longo do dia de trabalho numa sala de desmancha de frango.

Figura 10: Representação da evolução das contagens microbianas ao longo do dia de trabalho na superfície B.



(a-b) As médias numa mesma linha, seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Na Figura 10, visualiza-se a evolução das bactérias consideradas na superfície B – com higienização com duração de uma hora a meio do dia de trabalho. Às 13 horas foram recolhidas amostras da superfície anteriormente higienizada, para avaliar se a higienização intermédia traz melhorias higio-sanitárias significativas à linha de desmancha de frango, e consequentemente, ao produto final. Os resultados referentes à contagem de aeróbios totais a 30° C na superfície B às 13 horas foram considerados não satisfatórios (1,89 log ufc/100cm<sup>2</sup>). Porém houve uma redução significativa de 2 log quando comparada à superfície A, mostrando que a higienização permitiu uma redução nas contagens. Coelho *et al.* (2010), num estudo sobre contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies, relatou contagens de aeróbios totais a 30° C semelhantes às do presente estudo, atingindo 5 log ufc/cm<sup>2</sup>. Verificou-se um aumento na contagem deste grupo às 15 horas (3,59 log ufc/100cm<sup>2</sup>), sendo considerado satisfatório, de acordo com os limites estipulados para superfícies em trabalho (Anexo I, tabela E), tal como o valor apresentado às 17 horas (0,91 log ufc/100cm<sup>2</sup>). Os valores aqui apresentados estão de acordo com os relatados por Pereira (2008), num estudo referente a superfícies de corte de carne de aves em indústrias alimentares. O autor constatou que 30% das superfícies estudadas atingiram valores de aeróbios totais a 30° C até 4 log ufc/100cm<sup>2</sup>.



Também os teores de coliformes totais foram não satisfatórios às 13 horas para uma superfície limpa (1,56 log ufc/100cm<sup>2</sup>). Os valores encontrados às 15 horas foram não satisfatórios, atingindo 2,30 log ufc/100cm<sup>2</sup>. No fim do dia de trabalho, às 17 horas os teores encontrados foram aceitáveis (1,76 log ufc/100cm<sup>2</sup>). Porém este valor ultrapassa a contagem dos aeróbios totais a 30°C, podendo ser justificado pelo grau de incerteza associado ao método analítico (Wojslaw, 2012).

A contagem de *E. coli* às 13 horas, assim como nos restantes momentos, foi satisfatória apresentando um valor de 0,43 log ufc/100cm<sup>2</sup>.

As contagens de BAL apresentaram diferenças significativas nos horários de recolha considerados, tendo-se verificado às 15 horas um valor de 2,34 log ufc/100cm<sup>2</sup>, voltando a valores de contagem semelhantes aos da recolha inicial (13 horas) às 17 horas (0,43 log ufc/100cm<sup>2</sup>).

Os resultados das contagens de *Staphylococcus* coagulase-negativa apresentam-se satisfatórios, verificando-se um aumento significativo às 15 horas (1,10 log ufc/100cm<sup>2</sup>).

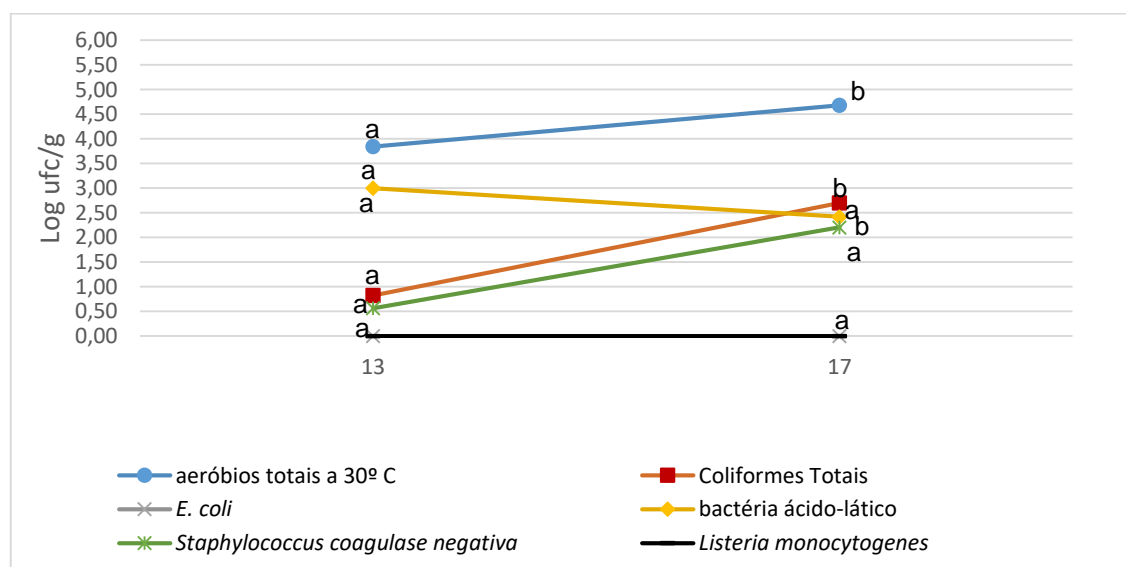
Às 17 horas volta a verificar-se a ausência.

Os resultados para *L. monocytogenes* foram satisfatórios, pois constatou-se ausência.

#### 4.1.4 Produto B

Na Figura 11, observa-se os resultados microbiológicos das amostras de peito de frango (produto B) que tiveram contacto com a superfície B.

Figura 11: Representação da evolução das contagens da microbiota analisada no produto B.



(a-b) As médias numa mesma linha, seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

De acordo com os limites estabelecidos para frango desmanchado pela empresa (Anexo I, tabela D) a contagem de aeróbios totais a 30° C às 13 horas apresentou-se não satisfatória. No fim do dia de trabalho (17 horas) a contagem teve um aumento, atingindo o valor de 4,68 log ufc/g. Apesar dos resultados apresentados não estarem de acordo com os limites estabelecidos, não acarretam riscos para saúde dos consumidores, uma vez que o alimento será consumido após tratamento a altas temperaturas, suficientes para a eliminação de potenciais perigos microbiológicos veiculados pela carne de frango, sendo extremamente importante alcançar uma temperatura de 70° C durante, pelo menos, 3 a 5 minutos em todo o produto (Viegas, 2014).

Os teores de coliformes totais atingiram 2,70 log ufc/g às 17 horas. Contudo a contagem de *E. coli* foi satisfatória não sendo possível sua quantificação.

Pode-se constatar que a contagem de BAL apresentou um resultado com maior expressão às 13 horas (3 log ufc/g), tendo diminuído às 17 horas (2,42 log ufc/g).

Os resultados das contagens de *Staphylococcus* coagulase-negativa foram elevados, às 17 horas obtiveram-se 2,21 log ufc/g, apesar de às 13 horas apresentarem um declínio chegando a 0,53 log ufc/g.

Não foi possível quantificar os resultados de *L. monocytogenes* no produto B.

#### **4.1.5 Avaliação dos resultados microbiológicos obtidos nas superfícies e nos produtos da linha de desmancha de frango ao longo de um dia de trabalho**

Quando comparados os produtos A e B, observou-se que não existiam diferenças significativas ao longo dos momentos de recolha, o que mostra que a superfície teve pouca influência nas contagens bacterianas finais dos produtos. Os microrganismos aderem firmemente à pele da carcaça de frango, não sendo facilmente removidos pela lavagem do produto, ficando assim na carne. Também poderão estar associadas possíveis falhas higiénicas durante o abate, como por exemplo o rompimento dos intestinos, contaminando assim a carne.

Tal como se indicou anteriormente, com o objetivo de caracterizar a microbiota presente na superfície de contacto da linha de desmancha de frango, foram efetuados estudos de caracterização de isolados. Na Tabela 4 são apresentados os resultados referentes à caracterização de alguns isolados obtidos, verificando-se que dominaram as bactérias Gram-positivas.

Tabela 4: Caracterização de isolados recolhidos na superfície de trabalho na sala de desmancha de frango.

Colónia	Gram	Caracterização	Cataláse	Oxidase
1	+	Bacillus	-	-
2	+	<i>Bacillus</i>	+	+
3	+	<i>Bacillus</i>	+	+
4	+	<i>Cocobacillus</i>	Sem identificação	Sem identificação
5	+	<i>Bacillus</i>	+	-
6	+	<i>Coccus</i>	+	-

As análises do produto que esteve em contato com as superfícies estudadas foram realizadas para se ter uma noção da sua qualidade higio-sanitária. A interpretação dos resultados baseou-se nos critérios microbiológicos estabelecidos para aves de capoeira pela empresa, com base na legislação vigente.

A não obtenção de maiores reduções para aeróbios totais a 30° C nas superfícies de contacto estudadas, pode estar relacionada com o facto de este ser um grupo muito heterogéneo de microrganismos e poder englobar não só a microbiota transitória, mas também a residente (Jumaa, 2005). É importante salientar que os resultados obtidos dependem também da manipulação dada ao produto, com possível influência da forma como cada manipulador lava e desinfeta as mãos.

Assim, uma possível higienização intermédia não se justificaria, pelo fato da microbiota presente na superfície B apresentarem valores finais semelhantes aos da superfície A, sendo a influência destas superfícies no produto semelhante nas duas situações, não influenciando os resultados microbiológicos do peito de frango. O dispêndio de tempo e pessoal envolvido para cumprir o plano de higiene com rigor, juntamente com o tempo que a produção estaria parada, eleva os custos sem que haja grande impacto na qualidade do produto final.

Este estudo permitiu não só avaliar a evolução do teor dos grupos bacterianos em estudo no produto e nas superfícies da linha de desmancha de frango, ao longo de um dia de trabalho, como permitiu verificar que a higienização intermédia não teve grande impacto na qualidade higio-sanitária do produto final, pois a mais-valia dessa higienização foi pouco significativa. O tempo que é necessário despende para uma correta higienização, em detrimento da não operação, não é compensado pela diminuição das contagens bacterianas do produto final e das superfícies de trabalho que com ele contactam, cuja contaminação atinge novamente valores similares às das superfícies não higienizadas em apenas duas horas. Por outro lado, foi possível caracterizar a microflora mais

comum presente nas superfícies estudadas diretamente associada à contaminação das matérias-primas laboradas, e deste modo abrir caminho para uma escolha seletiva de detergentes e desinfetantes a serem usados no procedimento de higienização de materiais e equipamentos da empresa de ação mais eficaz e direcionada para as bactérias (gram-positivas) identificadas neste estudo.

## **4.2 Caso 2: Validação dos desvios de temperatura admissíveis para o camião frigorífico de transporte**

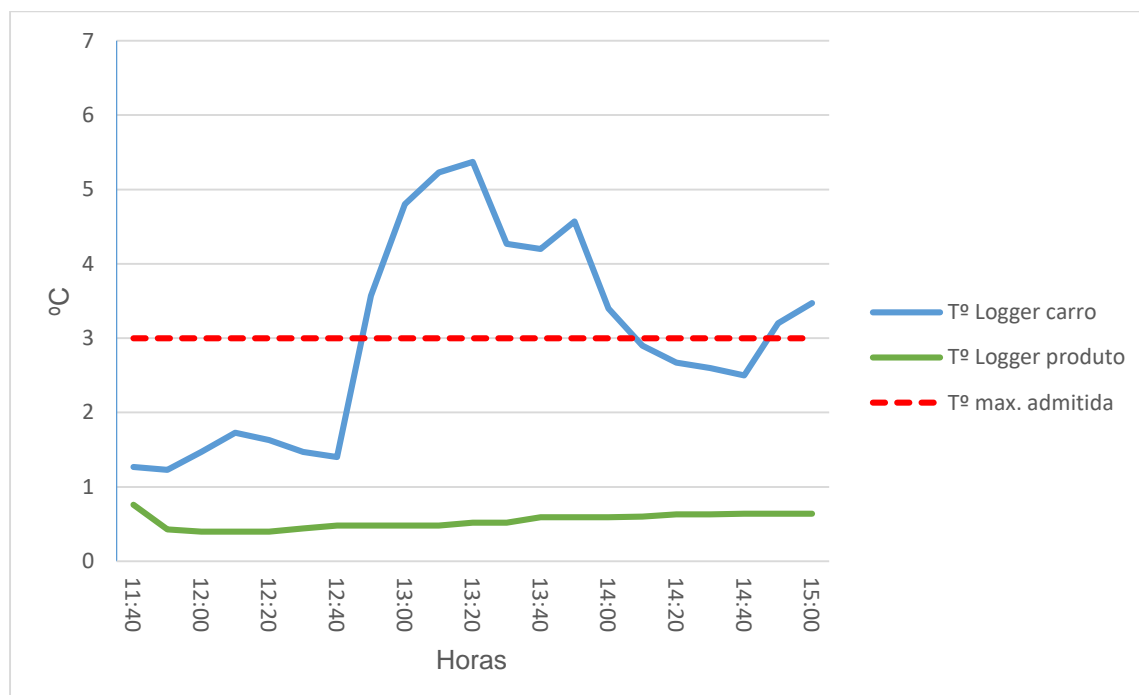
### **4.2.1 Produto refrigerado, miudezas**

As ITGs 20 e 32 (anexo II) relativas à verificação de temperaturas de expedição e transporte indicam os limites e desvios de temperatura para os produtos e para o interior do camião frigorífico.

A escolha do produto “miudezas” deveu-se ao facto de terem uma superfície maior, e aumentarem a temperatura de forma mais rápida. Nesse âmbito foi verificada a conformidade do limite máximo admissível correspondente a 3º C para o produto refrigerado e os desvios traçados. É importante fazer referência ao facto dos desvios de temperatura, verificados na expedição e transporte de produtos, serem decorrentes da normal execução da tarefa, com a abertura de portas para cargas e descargas.

Na Figura 12 apresenta-se a curva referente à temperatura registada da câmara frigorífica do camião e no produto (miudezas) comparados a uma temperatura limite de 3ºC.

Figura 12: Resultados referentes ao transporte em camião de produto refrigerado.



É possível observar o progressivo mas lento aumento de temperatura do produto, que se mantém abaixo do limite de temperatura admissível (3° C), mesmo após a temperatura do caminhão frigorífico estar fora do limite estabelecido. Pela avaliação das leituras efetuadas pelos *Data logger*, o pico máximo de temperatura atingido no caminhão frigorífico, no período de tempo em avaliação foi de 5,37° C.

Na tabela 5 são apresentados os valores das medições referentes aos *Data loggers* fixados na parede interna do caminhão e de outro fixado no produto. Para melhor representação foram destacados os valores a partir das 13:30 horas que representam a hora de saída do caminhão do cliente até às 15 horas quando chegou à empresa. A entrega ao cliente realizou-se das 13 às 13:30 horas, sendo mantidas as portas do caminhão abertas durante 30 minutos.

Tabela 5: Temperaturas (média e desvio padrão) internas do carro de transporte e do interior de uma cuvette com “miudezas”.

Horário	Temperatura (°C) interna do carro		Temperatura (°C) na cuvette do produto	
	Média ( $\bar{X}$ )	Desvio padrão (dp)	Média ( $\bar{X}$ )	Desvio padrão (dp)
11:40	1,27	0,17	0,76	0,20
11:50	1,23	0,05	0,43	0,04
12:00	1,47	0,12	0,40	0,08
12:10	1,73	0,05	0,40	0,08
12:20	1,63	0,09	0,40	0,09
12:30	1,47	0,12	0,44	0,06
12:40	1,40	0,14	0,48	0,05
12:50	3,57	1,45	0,48	0,06
13:00	4,80	1,70	0,48	0,06
13:10	5,23	1,93	0,48	0,06
13:20	5,37	1,96	0,52	0,03
13:30	4,27	1,82	0,52	0,03
13:40	4,20	1,75	0,59	0,01
13:50	4,57	1,67	0,59	0,01
14:00	3,40	2,08	0,59	0,01
14:10	2,90	2,40	0,60	0,00
14:20	2,67	2,36	0,63	0,05
14:30	2,60	2,40	0,63	0,05
14:40	2,50	2,13	0,64	0,04
14:50	3,20	1,64	0,64	0,04
15:00	3,47	0,86	0,64	0,04

A temperatura interna do camião entre as 12:50 até às 15 horas (num total de 2 horas e 10 minutos) ficou fora do limite; porém a temperatura do produto nunca esteve acima de 3º C, apresentando um desvio de 0,2º C, resultado obtido nas 3 voltas analisadas.

Ficaram deste modo validadas as tolerâncias máximas de desvio de temperatura do camião frigorífico e respetivo tempo de transporte. Pode afirmar-se que durante a expedição e transporte de produto, com o reforço das boas práticas de transporte e verificação e monitorização da temperatura por parte do camionista, é garantido que a temperatura do produto não seja afetada. Quando a temperatura interna do camião frigorífico apresentou valores acima dos limites estabelecidos, não significou que a do produto subisse acima do limite estabelecido. A temperatura inicial do produto é fundamental para a manutenção da sua conformidade à entrega.

Para voltas com muitas aberturas de portas, é fundamental a monitorização das temperaturas pelo motorista e a gestão dos tempos de percurso por forma a cumprir-se os intervalos de tolerância indicados na ITG 32 (Anexo II) referente ao limite máximo de tempo admitido para que a temperatura possa ficar fora do estipulado. O motorista, se necessário, deverá aguardar a recuperação da temperatura interna do camião frigorífico, antes da próxima abertura de portas ou até mesmo antes colocar os produtos que devem sair para entrega aos clientes. Os limites e tolerâncias estipulados nas respetivas instruções de trabalho para produto refrigerado são confirmados através deste estudo.

Pela manutenção do alimento em temperaturas de refrigeração (-1 e 8º C) é possível reduzir a velocidade das alterações microbiológicas e bioquímicas que ocorrem, mantendo-se assim a sua vida útil por dias ou semanas (Fellows, 2006).

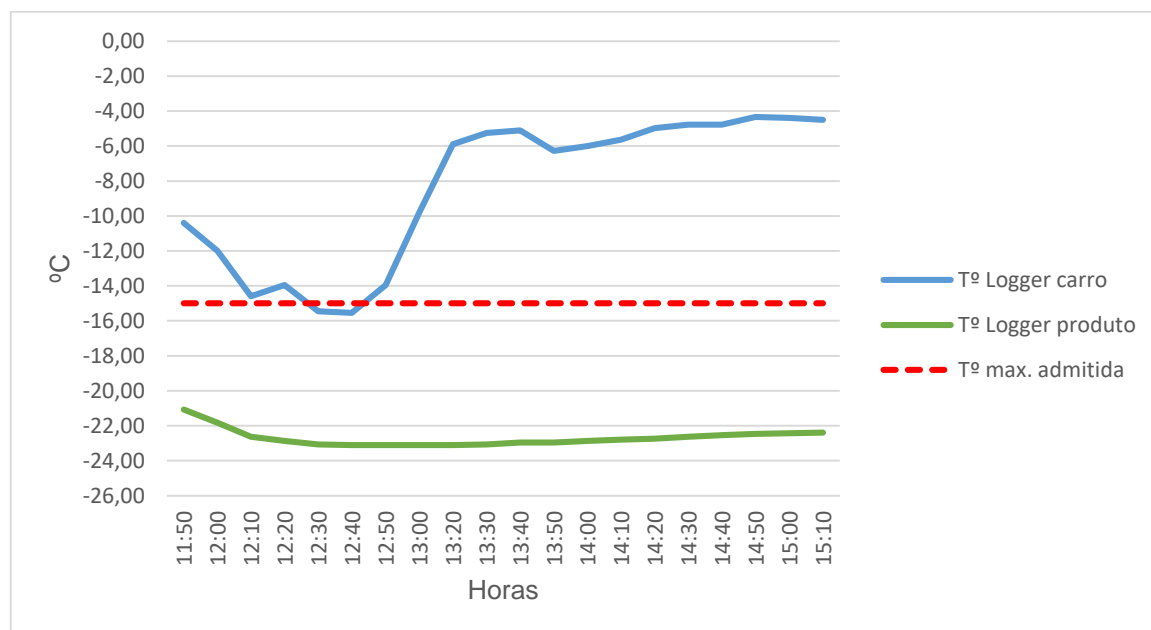
#### **4.2.2 Produto Ultracongelado, “nuggets”**

Foi realizada a verificação e validação da conformidade das ITG 20 e 32 (Anexo II), respetivamente, limites para a temperatura dos produtos e limites de variação de tempo/temperatura para o camião frigorífico de transporte e sua influência na variação de temperatura do produto ultracongelado. Usou-se como produto ultracongelado os “Nuggets”, uma vez que o transporte deste produto em más condições de manutenção da temperatura corresponderia ao pior cenário possível. Através da conformidade desta validação conclui-se que os resultados para produtos ultracongelados estão dentro do limite satisfatório.

É importante fazer referência ao facto dos desvios de temperatura que se verificaram na expedição e transporte destes produtos, serem decorrentes da normal execução da tarefa, com aberturas de portas para cargas e descargas.

Na Figura 13 apresentou-se a curva de temperatura interna do caminhão frigorífico e do produto (Nuggets de frango) avaliando-se a sua conformidade com o limite estabelecido até -15°C.

Figura 13: Resultados referentes ao transporte de produto ultracongelado.



Pela avaliação das leituras efetuadas pelo *Data logger*, o pico máximo de temperatura atingido no interior do caminhão frigorífico, no período de tempo em avaliação, foi de -4,33°C. No decorrer do estudo verificou-se uma pequena oscilação de temperatura do produto, mas que se manteve abaixo do limite estabelecido, mesmo após a temperatura da viatura estar fora do limite por mais de 2 horas (período de tempo máximo admissível nas respetivas instruções de trabalho).

Na Tabela 6 são apresentados os valores das medições referentes aos *Data loggers* fixados na parede interna do caminhão e de outro fixado no produto. Para melhor representação foram destacados os valores a partir das 13:50 horas que representam o momento de saída do caminhão do cliente até às 15:10 horas quando chegou à empresa. Durante este período o sistema de refrigeração do caminhão foi regulado para -5° C. A entrega ao cliente realizou-se das 13 às 13:50 horas, sendo mantidas as portas do caminhão abertas durante 50 minutos.

Tabela 6: Temperaturas (médias e desvio padrão) internas do carro de transporte e do interior de uma cuvette com “Nuggets”.

Horário	Temperatura (°C) interna carro		Temperatura (°C) na cuvette do produto	
	Média ( $\bar{X}$ )	Desvio padrão (dp)	Média ( $\bar{X}$ )	Desvio padrão (dp)
11:50	-10,40	4,60	-21,07	1,19
12:00	-12,00	3,70	-21,83	0,86
12:10	-14,60	1,60	-22,63	0,19
12:20	-13,95	1,75	-22,87	0,05
12:30	-15,45	0,45	-23,07	0,12
12:40	-15,55	0,25	-23,10	0,14
12:50	-13,95	1,75	-23,10	0,14
13:00	-9,80	2,24	-23,10	0,14
13:20	-5,90	0,30	-23,10	0,14
13:30	-5,25	0,05	-23,07	0,12
13:40	-5,10	0,40	-22,97	0,12
13:50	-6,27	2,08	-22,97	0,12
14:00	-6,00	1,98	-22,87	0,12
14:10	-5,63	1,32	-22,80	0,08
14:20	-4,97	0,88	-22,73	0,12
14:30	-4,77	0,38	-22,63	0,12
14:40	-4,77	0,52	-22,53	0,12
14:50	-4,33	0,57	-22,47	0,09
15:00	-4,40	0,16	-22,43	0,09
15:10	-4,50	0,24	-22,40	0,14

A temperatura interna do caminhão ficou fora do limite a partir das 12:50 horas até às 15 horas e 10 minutos (Tabela 6), mesmo chegando a ficar 2 horas e 20 minutos fora da temperatura estabelecida não prejudicou a manutenção da temperatura do produto, a qual nunca esteve fora do limite estipulado de até -15° C.

Entre as 13:50 e às 15:10 horas ocorre uma variação da temperatura do produto de 0,7° C.

Durante o ensaio a elevação total da temperatura do produto foi de 1° C, isto é, a temperatura do produto sobe de -23,1° C para -22,4° C. As tolerâncias máximas de desvio de temperatura no caminhão frigorífico de transporte e respetivo tempo foram deste modo validadas. Pode afirmar-se que durante a expedição e transporte de produto, com o reforço das boas práticas de transporte e verificação e monitorização da temperatura por parte do camionista, é garantido que a temperatura do produto não seja afetada. Quan-



do a temperatura interna do camião frigorífico apresentou valores acima dos limites estabelecidos, não significou que a do produto subisse acima do limite estabelecido. Quando a temperatura interna do camião frigorífico apresenta valores de temperatura acima dos limites estabelecidos isso não significa que ocorra uma alteração imediata da temperatura do produto.

Rahman & Ruiz (2007) afirmaram que a congelação não atrasa as reações físico-químicas e bioquímicas que levam à deterioração do alimento e que durante o armazenamento em congelação ocorre uma lenta mas progressiva alteração da qualidade sensorial. Estes autores afirmaram que nas condições usuais de congelação a atividade microbiana é praticamente impedida, uma vez que a maioria dos microrganismos não se desenvolve a temperaturas inferiores a  $-10^{\circ}\text{C}$ .

A temperatura inicial do produto é fundamental para a manutenção da sua conformidade, sendo que esta é determinada pela sua temperatura à entrega, se dentro, obviamente, dos limites estabelecidos pela ITG 20 (Anexo II). O produto deve ser transportado no menor período de tempo possível.

Os limites e tolerâncias estipulados nas respetivas instruções de trabalho para produto congelado foram confirmados através deste estudo.

### **4.3 Caso 3: Validação da eficácia do binómio tempo/temperatura da cozedura e arrefecimento de fiambre**

#### **4.3.1 Cozedura de fiambre**

Os fatores que definem o grau de destruição bacteriana são o tempo e temperatura de cozedura. De um modo geral, no caso do fiambre, é necessário assegurar uma temperatura constante de  $68-70^{\circ}\text{C}$  no centro térmico durante 30 a 60 minutos para que ocorra a destruição de microrganismos vegetativos deteriorantes e patogénicos, como por exemplo, *L. monocytogenes* (Norrung *et al.*, 2000). Deve-se ter em consideração a capacidade da câmara de cozedura em atingir rapidamente a temperatura necessária, pois se o aumento da temperatura for muito lento e o produto permanecer longos períodos a  $40-50^{\circ}\text{C}$ , pode ocorrer a multiplicação de microrganismos termorresistentes (Lagares, 2006).

Para as etapas de cozedura na empresa x, os limites de temperatura foram estabelecidos em  $68^{\circ}\text{C}$  e  $72^{\circ}\text{C}$ . Estes limites são condicionados por efeitos de ordem sensorial, uma vez que temperaturas com limites mais elevados afetariam diretamente as características organoléticas do produto final. Os processos tecnológicos foram realizados em condições controladas numa câmara de cozedura fechada e a verificação foi efetuada com o auxílio de um termómetro introduzido no centro térmico do produto no fim da etapa. O tempo total de permanência do produto na câmara de cozedura foi de 4 horas, incluindo o tempo de aquecimento. O programa de gestão pré-estabelecido mantém a

temperatura crítica no centro térmico do produto durante 26 minutos e 20 segundos para o fiambre da perna de peru e durante 23 minutos e 50 segundos para o fiambre de peito de peru.

O processamento térmico, ou cozedura, pode ser definido como sendo uma fase na qual a carne passa por uma série de fenómenos físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos que vão definir a qualidade do produto, características organoléticas e assegurar a sua estabilidade microbiológica (Tornberg, 2005).

Na tabela 7, são apresentados os resultados das análises microbiológicas à massa de fiambre crua e após cozedura para os dois tipos de fiambre.

Tabela 7: Logaritmos das contagens (média e desvio-padrão) dos parâmetros microbiológicos analisados em ambos os fiambres considerados, antes e depois da cozedura.

Parâmetros microbiológicos (log ufc/g)	Fiambre do peito de peru		Fiambre da perna de peru	
	Antes da cozedura	Cozedura 72° C	Antes da cozedura	Cozedura 68° C
<b>Aeróbios totais a 30° C</b>	7,56±0,13	0,49±0,70	5,80±0,04	0±0
<b>Coliformes totais</b>	5,74±0,23	0±0	4,62±0,16	0±0
<b><i>E. coli</i></b>	3,59±0,12	0±0	1,93±1,37	0±0
<b>BAL</b>	5,88±0,14	0±0	3,46±0,02	0±0
<b>Bolores e leveduras</b>	2,66±0,02	0±0	2,45±0,09	0,57±0,80
<b>Temperatura no centro térmico do produto (<math>\bar{X} \pm dp</math>)</b>	5°±0,7	71,3°±0,2	5,2°±0,6	70,5°±0,4

A temperatura da massa crua apresentou-se conforme estando dentro do limite estabelecido de até 7° C. Os tratamentos térmicos efectuados não eliminaram totalmente os microrganismos analisados, mas verifica-se uma redução significativa de microrganismos aeróbios totais a 30° C.

A ausência na contagem de coliformes totais, *E. coli* e BAL depois da etapa de cozedura confirma a eficácia do tratamento térmico, sendo ambos considerados resultados satisfatórios. Quanto as BAL, esta ausência foi expressiva, pois de acordo com Beasley (2004) são produtoras de ácido-láctico sendo responsáveis pelo aroma e sabor característicos de produtos curados cozidos e pela sua posterior deterioração.

Nos resultados obtidos para bolores e leveduras observaram-se duas diferentes situações: o fiambre do peito de peru manteve resultados satisfatórios e o fiambre da perna de peru apresentou resultado não satisfatório com um valor de 0,57 log ufc/g. Este resultado pode ter ocorrido por má selagem do saco de embalagem do fiambre com con-

comitante recontaminação durante o arrefecimento e desenformagem, ou ainda por erro associado ao método analítico. A presença de bolores e leveduras pode condicionar a deterioração rápida dos produtos cárneos, visto que estes microrganismos podem multiplicar-se em ambientes de refrigeração (Pereira *et al.*, 2008).

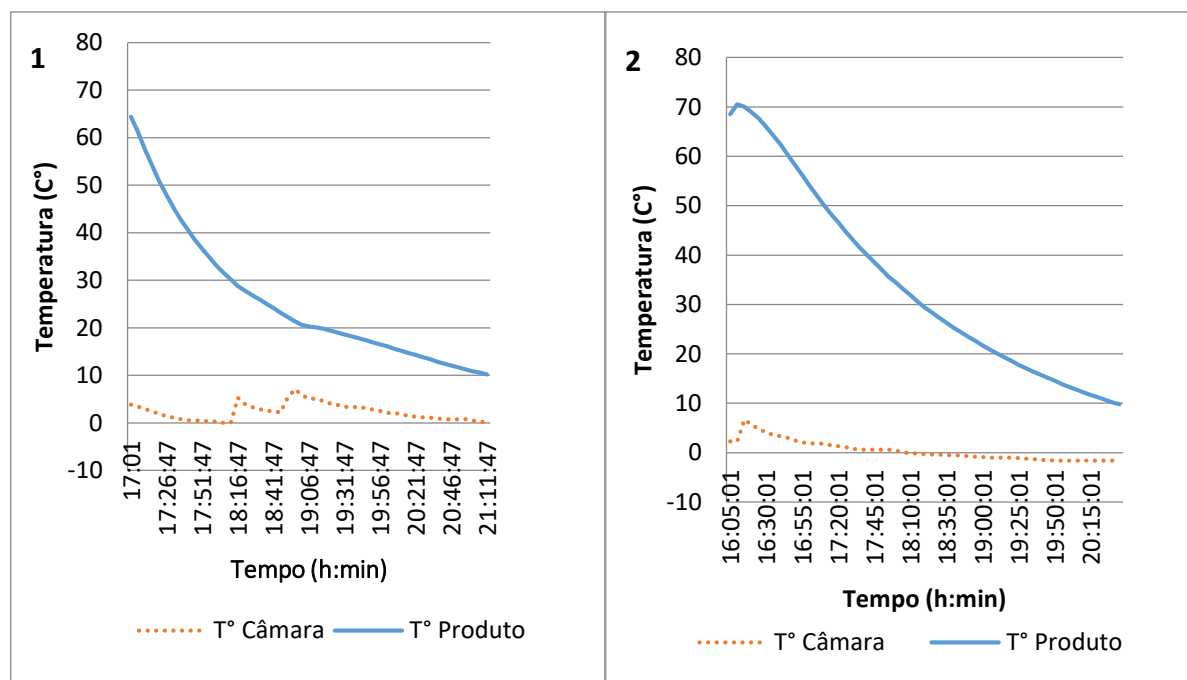
Concluiu-se assim que os binómios tempo/temperatura utilizados no processo de cozedura do fiambre foram eficazes na redução dos grupos de microrganismos avaliados, garantindo a segurança destes alimentos ao reduzir/eliminar os potenciais perigos microbiológicos presentes como *Salmonella* e *L. monocytogenes*.

#### 4.3.2 Arrefecimento de fiambre

Rodrigues (2013) afirmou que os produtos submetidos a tratamento térmico nunca devem ser colocados directamente numa câmara de refrigeração sem antes passarem pelo processo de duche de água fria.

Na Figura 14 é demonstrado o comportamento da temperatura interna da câmara de arrefecimento, bem como a temperatura do centro térmico dos produtos (fiambre do peito de peru e da perna de peru).

Figura 14: Binómio tempo/temperatura registado durante o arrefecimento do fiambre do peito de peru (1) e do fiambre da perna de peru (2).



O fiambre do peito de peru (Figura 14.1) deu entrada na câmara com uma temperatura no centro térmico de 65° C, que desceu progressivamente até 10° C em 4 horas e 25

minutos. Observaram-se algumas oscilações na temperatura da câmara devido a abertura de portas e acondicionamento de outros produtos, mas esse facto não afetou a continuidade do arrefecimento.

O fiambre da perna de peru (Figura 14.2) entrou na câmara de arrefecimento com uma temperatura de 71° C e atingiu 10° C em 4 horas e 10 minutos. Observaram-se poucas oscilações na temperatura da câmara, que não afectaram a continuidade do arrefecimento.

Independentemente das características do produto, o tempo de arrefecimento de ambos os produtos avaliados foram semelhantes.

Lidon & Silvestre (2007) afirmam que o tempo máximo de arrefecimento não deve ultrapassar as 6 horas, sendo desejável que se atinja rapidamente temperaturas inferiores a 10° C, para limitar a multiplicação microbiana.

Relativamente à temperatura interna da câmara de arrefecimento, esta rondou os 0° C durante todo processo de arrefecimento, com algumas oscilações pontuais devido à entrada de produto quente. Estas oscilações não tiveram repercussões na multiplicação microbiana e, conseqüentemente, na segurança do produto final.

A tabela 8 mostra os resultados referentes às análises microbiológicas das amostras de fiambre do peito e da perna de peru.

Tabela 8: Logaritmos das contagens (média e desvio-padrão) dos parâmetros microbiológicos analisados em ambos os fiambres considerados, antes e após o processo de arrefecimento.

Parâmetros microbiológicos (log ufc/g)	Fiambre do peito de peru		Fiambre da perna de peru	
	Após a cozedura a 72°C	Depois do arrefecimento	Após a cozedura a 68°C	Depois do arrefecimento
<b>Aeróbios totais a 30° C</b>	0,49±0,70	1,68±0,28	0±0	2,27±0,32
<b>Coliformes totais</b>	0±0	0,62±0,87	0±0	0±0
<b><i>E. coli</i></b>	0±0	0±0	0±0	0±0
<b>BAL</b>	0±0	0±0	0±0	0±0
<b>Bolores e leveduras</b>	0±0	0±0	0±0	0±0
<b>Tempo de arrefecimento (<math>\bar{X} \pm dp</math>)</b>	4:10±0,32		4:25±0,23	

Apesar de o arrefecimento de ambos os fiambres estar dentro do tempo limite citado por Lidon & Silvestre (2007), observou-se uma multiplicação dos microrganismos aeróbios totais a 30° C e coliformes totais. Segundo a FSAI (2006), os microrganismos deteriorantes e patogénicos podem estar presentes devido a falhas no tratamento térmico e

processo de arrefecimento e ainda devido a recontaminação após confeção. Para justificar a multiplicação de coliformes totais, deve-se ter em consideração os factores intrínsecos e extrínsecos (Warriss, 2009). A temperatura é especialmente importante pois pode potenciar, retardar ou inibir a sobrevivência e multiplicação de microrganismos (FSAI, 2005). A temperatura inferior a 5° C o desenvolvimento microbiano é retardado, a temperatura superior a 60° C ocorre redução microbiana, com exceção dos microrganismos termófilos que conseguem multiplicar-se até 90° C (Baptista & Linhares, 2005). Não foi possível quantificar BAL (tabela 8). De acordo com Saraiva (2008) a deterioração do produto por este grupo de microrganismos resulta na formação de viscosidade superficial e de CO<sub>2</sub>, diminuindo o pH e desenvolvendo odores desagradáveis.

Em ambos os fiambres, os resultados referentes a bolores e leveduras são satisfatórios, uma vez que durante a etapa de arrefecimento não houve multiplicação dos mesmos. Segundo Pereira *et al.*, (2009) os bolores e leveduras conseguem adaptar-se a temperatura de refrigeração e a ambientes com escassez de água.

As contagens de *E. coli* apresentam-se satisfatórias, o que reforça a eficácia do tratamento térmico associado ao arrefecimento. Sendo um indicador de origem fecal, podem afectar negativamente a qualidade deste tipo de produto (Guerreiro, 2011).

Mesmo ocorrendo multiplicação de aeróbios totais a 30° C na fase de arrefecimento, os resultados microbiológicos classificaram-se como “Satisfatórios” com base nos limites em vigor (Anexo I tabela A). Esta multiplicação pode ser justificada pelo fato deste produto apresentar valores elevados de aw e pH (Juneja & Sofos, 2010).

O critério estabelecido para esta validação teve como base a eliminação ou redução das contagens microbianas. Assim sendo, comprovou-se que os limites críticos de tempo e temperatura estipulados para a etapa de arrefecimento foram suficientes para garantir a qualidade higio-sanitária dos produtos considerados.

## **5 Conclusões Gerais**

Este trabalho permitiu concluir que a implementação de um sistema eficaz de gestão da segurança alimentar controla potenciais perigos identificados e reduz significativamente o risco para a saúde do consumidor. Salienta-se a importância da monitorização dos pontos críticos de controlo e da verificação, com o complemento da validação das medidas de controlo. Objetivou-se ao longo deste trabalho a garantia da conformidade do produto produzido. Neste sentido, foram efetuados três estudos distintos na empresa X:

1. Estudo da evolução das contagens microbianas em frango desmanchado e numa superfície de contacto ao longo de um dia de trabalho. Testaram-se duas frequências de higienização de superfícies distintas.

2. Validação dos desvios de temperatura admissíveis para o camião frigorífico de transporte, sem influência no produto transportado. Para o efeito, foram escolhidos um produto refrigerado e um produto ultracongelado.
3. Validação da eficácia do binómio tempo/temperatura utilizado na cozedura e arrefecimento de fiambre. Estudaram-se os casos do fiambre peito e da perna de peru.

Abordando o primeiro caso, referente ao pré-requisito de higienização, concluiu-se que uma higienização intermédia das superfícies de contacto durante o processo de desmancha de frango não se justifica, uma vez que os níveis dos indicadores microbiológicos avaliados apresentaram um aumento substancial e os meios despendidos para tal ação não compensariam.

No segundo caso, verificou-se que mantendo uma boa gestão do tempo e temperatura de transporte, pode garantir-se que durante o transporte do produto ao cliente o mesmo permanecerá em conformidade.

Relativamente ao terceiro caso, constatou-se a importância de adequar o binómio tempo/temperatura para que se possa garantir um produto seguro.

## 6 Bibliografia

- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2000). *Food microbiology*. (2nd ed.). Great Britain: Royal Society of Chemistry. pp 5-19. University of Surrey.
- Aguiar, C. (2006). *Implementação de boas práticas de manipulação em uma creche do município de São Paulo*. Centro Universitário S. Camilo, v.12, n.1, pp. 47-57.
- Alvarado, C. (2006). Chapter 33: *Poultry Processing Quality*. In: *Handbook of Food Science. Technology and Engineering*. Editora Taylor & Francis Vol. 1, pp 166.
- Alvarenga, A.L.B. (2011). *Proposta de sistema para a gestão da qualidade e da segurança de vegetais minimamente processados*. Dissertação de Doutorado em Engenharia de Produção. Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade de São Carlos.
- Anderson, M. R. P. & Pascual, V. C. (2000). *Microbiologia alimentaria: Metodologia analítica para alimentos y bebidas* (2a Ed.) Editora Diaz de Santos. pp. 116-131.
- Añíbarro, B., Seoane, F., Múgica, M. (2007) *Involvement of Hidden Allergens in Food Allergic Reactions*. Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology, 17, pp. 168-172.
- Arima, H. K., Lemos, A. L. S. C. (2002) *Importância da qualidade das matérias-primas cárneas no processamento de embutidos. Princípios do processamento de embutidos cárneos*. CTC/ITAL, pp. 137-150.
- ASAE, (2016) *Perigos de Origem Alimentar*. Acedido em: Out. 18, 2016. Disponível em: <http://www.asae.pt/?cn=59605963AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA>
- Associação Portuguesa de Certificação (2011). *Guia Interpretativo ISO 22000: 2005 – Sistema de Gestão da Segurança Alimentar*. Porto: APCER. pp. 9-16.
- Associação Portuguesa De Certificação, (2010). *Guia Interpretativo NP EN ISO 9001:2008*. . Porto: APCER. pp. 93.
- AVISITE. Paul Aho (2014), *consumo de aves pode superar o de carnes vermelhas*. Acedido em Ago. 24, 2016. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/noticias/imprimir.php?codnoticia=13905>.
- Aymerich, T., Picouet, P.A., Monfort, J.M. (2008). *Decontamination technologies for meat products*, Meat Science, vol. 78, pp. 114-129.
- Baptista, P. & Linhares, M. (2005). *Higiene e Segurança Alimentar na Restauração: Volume I*. Forvisão. Consultoria em Formação Integrada, S.A. Guimarães Portugal. pp. 18.
- Baptista, P. e Saraiva, J. (2003). *Higiene pessoal na indústria alimentar*. Forvisão - Consultoria em Formação Integrada Lda. Guimarães. pp. 55-60.
- Baptista, P.; Antunes, C. *Higiene e Segurança Alimentar*. Tradução . (2ª ed.) Guimarães: Forvisão - Consultoria em Formação Integrada LDA., 2005. p. 9-26.

- Bastos, P.A.M.B. (2009). *Sobrevivência de Escherichia coli O157:H7 em iogurtes*. Tese de Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal luminense.
- Barros, V.R.M.; Pavia, P.C.; Panetta, J.C. (2002). *Salmonella spp.: sua transmissão através dos alimentos*. Higiene Alimentar, v. 16, n. 91, pp. 15-19.
- Barbut, S. (2002). *Poultry Products Processing: An Industry Guide*. Boca Raton: Crc Press, pp. 548.
- Batista, L. R.; Chalfou, N. S. M.; Prado, G.; Schwan, R. F.; Wheals, A. E. (2011), *Toxicogenic fungi associated with processed (green) coffee beans (Coffea arabica L.)*. International Jour. Acesso em: Jul. 20, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12878387>
- Batista, P., Noronha, J., Oliveira, J., & Saraiva, J. (2003). *Modelos Gênicos de HACCP*. Guimarães: Forvisão - Consultadoria em Formação Integrada, Lda.
- Beasley T. (2004) *The characteristics of performance management research: Implications and challenges*, International Journal of Productivity and Performance Management, Vol. 53 Iss: 4, pp.334-344.
- Bressan. M. C. (2004). *Produtos cárneos curados e defumados*. Acedido em Jun. 19, 2016. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/upload/boletim/extensao-tmp/boletim-extensao-076.pdf>
- Brito, D. A. P., Alves L. M. C., Costa F. N. (2010) *Deteção de Salmonella alban, Staphylococcus coagulase positivos e micro-organismos mesófilos em carcaças de frango in natura*. Acesso em: Out, 17, 2016 Disponível em: [http://200.144.6.109/docs/arq/v77\\_1/brito.pdf](http://200.144.6.109/docs/arq/v77_1/brito.pdf)
- BSI Management Systems. (2008). *A quick guide to ISO 22000:2005*. Acedido em Jun. 12, 2016. Disponível em: <http://www.bsigroup.com/en-AU/ISO-22000-Food-Safety-Standards>.
- Bueno, Á. A. *Ciclo PDCA*, (Bueno, 2013). . Acedido em Jul. 2, 2016. Disponível em: [http://www.luisquilherme.com.br/download/eng1530/turmac04/g07-ciclo\\_pdca.pdf](http://www.luisquilherme.com.br/download/eng1530/turmac04/g07-ciclo_pdca.pdf)
- Cansian, R. L.; Floriani, S. T. R.; Valduga, E. (2005) *Microbiological analysis of critical points in the chicken industry*. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 48, n. 3, pp. 403-406.
- Cardoso, A. L. S. P.; Castro, A. G. M.; Tessari, E. N. C.; Baldassi, L; Pineiro, E. S. (2005) *Pesquisa de Salmonella spp coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango*. Higiene Alimentar. v.19, n.128, pp. 144-150.
- Cardoso, S. (2011). *Elaboração e avaliação de projetos para agroindústrias*. Porto Alegre: UFRGS. pp. 66.
- Centro de Formação Profissional do Setor Alimentar (2016) *Implementação e e avaliação do sistema HACCP*. Acedido em: Out, 19, 2016 Disponível em: [http://www.cfpsa.pt/news/show/implementacao\\_haccp.html](http://www.cfpsa.pt/news/show/implementacao_haccp.html)



- Chambel, A., Afonso, A., Tomé, A., Gonçalves, C., Anjos, F., Pereira, L., Marramaque, M.C., Queiroz, P., Távora, T., & Sousa, J.V. (2002). *Guia Geral de Aplicação do Sistema HACCP: Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controlo*. Federação das Indústrias Portuguesas Agro-Alimentares.
- Codex Alimentarius. (2003) *General principles of food hygiene CAC/RCP 1-1969 rev. 4* 2003. Codex Alimentarius, pp. 31.
- Codex Alimentarius (2008). *Guidelines for the validation of food safety control measures*. CAC/GL 69. pp. 1-16.
- Coelho, A. et al., (2010) *Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais*. Acedido em: Out. 12, 2016. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-81232010000700071](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232010000700071)
- Contreras, J.C.; et al., (2003). *Higiene e sanitização na indústria da carne e derivados*. Editora Varela. pp.15-17.
- Correia, N. (2009). *Conservação, melhoramento e produção de novos alimentos*. Acedido em: Abr. 23, 2016. Disponível em: <http://www.slideshare.net/nunocorreia/conservao-de-alimentos-400072>.
- Crowley, H., Cagney, C., Sheridan, J.J., Anderson, W., McDowell, D.A., Blair, I.S., Bishop, R.H., & Duffy, G., (2005). *Enterobacteriaceae in beef products from retail outlets in the Republic of Ireland and comparison of the presence and counts of E. coli O157:H7 in these products*. Food Microbiology 22, pp. 409-414.
- DG-SANCO (2005). *Documento de orientação sobre aplicação de procedimentos baseados no HACCP e sobre a simplificação da aplicação dos princípios HACCP em determinadas empresas do sector alimentar*. Direcção-Geral da Saúde e Protecção do Consumidor, Bruxelas, Bélgica. pp.28.
- Delú, M. A. F.; Sbampato, C. G.; Mendonça, A. T.; Iccoli, R. H; Maia, S. C. (2006). *Avaliação Microbiológica De Cortes De Frango Resfriado, Comercializados No Município De Lavras, Mg*. Higiene Alimentar, V. 20, pp.83-85.
- Doyle, M.P. & Beuchat L.R. (2007). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Washington: ASM Press. pp.112-116.
- Duarte, C. (2010). *Análise do Sistema de Segurança Alimentar de uma Indústria de Produtos da Pesca Congelados*. Discertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Embrapa. (2011). *Produtos cárneos*. Acedido em Jun. 18, 2016. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos\\_de\\_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweganedo.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweganedo.html)
- FAO. Food and Agriculture Organization. (2006). *Production poultry*. Acedido em Set 17, 2016. Disponível em: [http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S087118X2011000100017](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S087118X2011000100017)
- FAO/WHO. (2008). *Guidelines for the validation of food safety control measures*. Acedido em Jul. 4, 2016. Disponível em: [http://www.codexalimentarius.net/web/index\\_en.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp)

- FAO/WHO. (2013) *Code of hygienic practice for refrigerated packaged foods with extended shelf life*. Acedido em Mai. 14, 2016. Disponível em: [http://www.codexalimentarius.net/web/index\\_en.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp)
- Felix, J. C., Züge, R.M., Vicentini, N.M. (2003). *A certificação como ferramenta para a promoção da segurança alimentar*. Metrologia para a Vida Sociedade Brasileira de Metrologia. Recife.
- Fellows, P.J., (2006). *Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e práticas*. São Paulo: Artmed.
- Food Safety Authority of Ireland. (2006). Guidance note no. 15 – Cook-chill systems in the food service sector (revision I). Dublin, Ireland.
- Forsythe, S.J. (2002). *Microbiologia da Segurança Alimentar*. (2ª ed) Editora Artmed. Porto Alegre. pp. 602.
- FSAI (2005). *Guidance note no. 18: Determination of food shelf-life*. Dublin: Food Safety Authority of Ireland.
- Gamazo, C., Lopez-Goni, I. Diaz, R. (2005). *Manual práctico de Microbiologia*. (3ª ed.). Elsevier Espana.
- Gelli, D. S. Leitão, M. F.F. Moretti, C. L. Cruz, J.C. (2004). *Manual de boas práticas agrícolas e sistema APPCC*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. 2004.98p.
- Gonçalves, J. R. (2002). *Classificação dos embutidos cárneos. Princípios do processamento de embutidos cárneos*. ITAL, pp.03-10.
- Guedes, A. B. (2006). *Segurança e saúde no trabalho e segurança alimentar - promover a saúde humana*. Segurança e qualidade alimentar v1, pp. 52-53.
- Guerrero, I. & Chabela, L. (2000). *Meat and Poultry. Spoilage of cooked meats and meat products. Problems caused by bacteria*. Encyclopedia of food microbiology. Bath Academic Press. pp. 1266-1272.
- Guerreiro, L. (2011). *Influência do uso de enrofloxacin no aparecimento de resistência às quinolonas mediada por plasmídeos em escherichia coli de vitelos*. Dissertação de mestrado em Segurança Alimentar. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.
- Hui, Y. (2006). *Handbook of Food Science Technology, and Engineering*. Editora Taylor & Francis. Boca Raton. pp.1-50.
- ICMSF. (2002). *Microorganisms in foods 7: microbiological testing in food safety management*. New York: Kluwer Academic/Plenum publishers. pp. 5.
- ILSI. (2005) *Research foundation/risk science institute, expert panel on Listeria monocytogenes in foods. Achieving continuous improvement in reduction in foodborne listeriosis – a risk based approach*. Journal of Food Protection, v.68, n.9, pp.1932-1994.
- ISO 4832, 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coliforms-Colony-count technique.

- ISO 4833-1:2013. Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Part 1: Colony count at 30o C by the pour plate technique.
- ISO 11290-1 (1996) - *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes– Part 1: Detection method*
- ISO 11290-2 (1998)/Adm 1(2004) *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 2: Enumeration method.*
- ISO 15214:1998 (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30 °C.*
- ISO 16649-2, 2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the 57 enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive Escherichia coli-Part 2: colony-count technique at 44o C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-glucuronide.
- ISO/DIS 18593:2004. Microbiology OF FOOD and animal feeding stuffs – Horizontal method for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
- Jay, J. M.; Loessner, M.J.; Golden, D.A. (2005). *Modern Food Microbiology*. (7a ed.) New York. Springer.
- Jumaa, P. A., (2005). *Hand Hygiene: simple and complex*. International Journal of Infectious Diseases n 9. pp. 3-14.
- Juneja, V. K., Sofos J. N. (2010). *Pathogens and toxins in foods: Challenges and interventions*. American Society for Microbiology Press.
- Lagares, J. (2006) *Manual de utilização técnica – metalquimia: Processo de fabricação de productos cárnicos cocidos de músculo entero IV: Cocción*. España. pp. 126-132.
- Leão, M.M. A (2008). *Fome nos tempos de supersafras*. Folha de São Paulo. São Paulo, Acedido em Jun. 15, 2016. Disponível em: [http://www.redesans.com.br/redesans/wp-content/uploads/2012/10/indicadores\\_de\\_seguranca.pdf](http://www.redesans.com.br/redesans/wp-content/uploads/2012/10/indicadores_de_seguranca.pdf)
- Lidon, F.; Silvestre, M. (2008). *Conservação de Alimentos – Princípios e Metodologias*. Escolar editora. Lisboa. pp. 12-48, 49-86.
- Lima, A. W. O.; Sousa, C. P. (2002). *Infecções e intoxicações alimentares*. In: *Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos*. 1 ed, v. 1, pp. 175-199.
- Lobb, A., Mazzocchi, M.Traill W., (2005). *Modelling risk perception and trust in food safety information within the theory of planned behaviour*. Food Quality and Preference 18, pp. 384–395
- Loureiro, M., (2009). *Código de Boas Práticas de Segurança Alimentar (HACCP) na Restauração Temporária*. pp. 4-13.

- Machado, A. Silvestre, L. (2005). *Introdução à Segurança Alimentar*. Guia de Apoio ao Formador. Investigação e Formação, Lda. Faro. Acedido em Jul. 16, 2016, disponível em <http://opac.iefp.pt:8080/images/winlibimg.exe?key=&doc=71442&img=1039>
- Lues, J. F. R., (2007). Tonder IV. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, n 18. pp. 326–332.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Dunlap, P. V.; Clark, D.P. (2010) *Microbiologia de Brock*. (12ª ed.) Artmed. Porto Alegre. pp. 1160.
- Magalhães, M. A.; Dias, G.; Milagres, M. P.; Ottomar, M.; Soares, C. F. (2011) *Implantação das boas práticas de fabricação em uma indústria de laticínios da zona da mata mineira*. Acedido em Out. 5, 2016. Disponível em: <http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p005.pdf>
- Marchi, P. G. F. (2006). *Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista.
- Marques, V. (2011). *Norma NP EN ISO 22000:2005 – “sistemas de gestão da segurança alimentar” proposta de implementação numa empresa de engarrafamento de água*. Dissertação de mestrado em Engenharia Química. Instituto Superior Técnico de Lisboa, Lisboa.
- Meade, G.C. (2004). *Meat quality and consumer requirements*. Poultry meat processing and quality. Editora In Mead G.C. England. pp. 21-33.
- Mena, H., Santos, J. E. P., Huber, J. T., Tarazon, M., Calhoun, M. C., (2004). *The effects of varying gossypol intake from whole cottonseed and cottonseed meal on lactation and blood parameters in lactating dairy cows*. *J. Dairy Sci.*, pp. 2506-2518.
- Miranda, A. (2012). *Estudo de Implementação da NP EN ISO 22000:2005 na Sala de Desmancha de Carnes Frescas da Empresa “X” Cash & Carry*. Dissertação de mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa.
- Moll, M., Moll, N. (2006). *Compendio de riesgos alimentarios*. Editorial Acirbia S.A., Zaragoza, Espanha. pp. 59-67.
- Muck, R., (2010). *Silage microbiology and its control through additives*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 183-191. Acedido em Jun. 18, 2016. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300021&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300021&script=sci_arttext&lng=pt)
- Nollet, L. & Toldrá, F. (2006). *Advanced Technologies for Meat Processing*. Editora Taylor and Francis. pp. 78-94. Estados Unidos da América.
- Norma Portuguesa (2005). NP EN ISO 22000:2005. *Sistemas de Gestão da Segurança Alimentar. Requisitos para qualquer organização que opere na cadeia alimentar*. Instituto Português da Qualidade. pp. 7-53. Portugal. Lisboa

- Norma Portuguesa 3005 (1985). *Microbiologia alimentar. Preparação das diluições para análise microbiológica*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Norma Portuguesa 3277-1 (1987) *Microbiologia alimentar. Contagem de bolores e leveduras. Parte 1: Incubação a 25°C*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Norma Portuguesa 4400-2 (2002). *Microbiologia alimentar. – Regras gerais para a contagem de Estafilococos coagulase positiva (Staphylococcus aureus e outras espécies)*. Parte 2: Técnica sem confirmação de colónias (Método corrente).
- Norrung, B., Andersen, J. K., Schlundt, J., (2000) *Incidence and control of Listeria monocytogenes in foods in Denmark*. International Journal of Food Microbiology, pp. 195-203.
- Norrung, B. (2010). *Microbiological criteria for Listeria monocytogenes in foods under special consideration of risk assessment approaches*. International Journal of Food Microbiology, v. 62, n. 3, pp. 217-221.
- Olinto, C. (2007). *Generalidades da refrigeração*. Editora da FURG, Rio Grande do Sul, Brasil. pp. 1-4.
- Oliveira, M. (2009). *Enformar Guia de Boas Práticas de Higiene e Segurança Alimentar*. Câmara Municipal do Porto - Divisão Municipal de Feiras, Mercados e Inspeção Sanitária. pp. 57-61. Porto.
- Omich, R. G. P., Tomich, T. R., Amaral, C. A. A., Junqueira, R. G., Pereira. A. J. G. (2005) *Metodologia para avaliação das boas práticas de fabricação em indústrias de pão de queijo*. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas v. 25, nº 1, pp. 115-120.
- Paiva, A. L.; Meneses, F, (2007) *Interpretação da ISO 22000 Segurança Alimentar*, SGS ICS. Serviços de Internacionais de Certificação, Lda. V.1.1, pp. 39-50.
- Parker, R. (2003). *Introduction to Food Science*. Editora Delmar, pp. 78- 105. Estados Unidos da América.
- Pereira, E. Ramalhosa, E., Fernandes, L. M. E Lopes, M. F. (2008) *Avaliação das condições microbiológicas de superfícies e manipuladores do ramo alimentar*. Acesso em: Ago. 16, 2016. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/3494/5/Poster%20IIJornadas%20An%C3%A1lises%20CI%C3%ADnicas.pdf>
- Pereira, R., Vicente, A. (2010). *Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing*. Food Research International, v. 43, n. 7, pp. 1936-1943.
- Pérez, M. A. F. & Berenguer, A. J. (2006). *Riesgos microbiológicos, control microbiológico y APPCC*. Microbiología y seguridad alimentaria. Control de los riesgos microbiológicos. Valencia: Editoria Universidad Politécnica de Valência. pp. 33-47.
- Pinto, J.; Neves, R. (2010) *HACCP – Análise de Riscos no Processamento Alimentar*, (2ª ed.), Publindustria, Edições Técnicas, pp. 16-24. Porto.
- Portal De Segurança Alimentar. (2009). *Segurança alimentar*. Acedido em Jun. 13, 2016. Disponível em: <http://www.segurancaalimentar.com/conteudos.php?id=11>



Rahman, M. S., Ruiz, J. F. V. (2007). *Food Preservation by Freezing*. Handbook of Food Preservation. Boca Raton: CRC Press, pp. 635-657.

Regulamento (CE) nº 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 24.4.2004, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais (JO L 165 de 30.4.2004). Retificação JO L 191 de 28.5.2004, p.1.).

Regulamento (CE) nº 2073/2005 da Comissão de 15.11.2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, JO L 338, de 22.12.2005, p. 1. Retificado no JO L 278 de 10.10.2006, p.32. Retificado no JO L 283 de 14.10.2006, p. 62 versão portuguesa (limites dos ovos produtos). Retificação JO L 283 de 14.10.2006, p.62 da versão inglesa.

Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. Jornal Oficial da União Europeia, L139, 55-205.

Ribeiro, R. P., Martins, J. T., Marziale, M. H. P. E Robazzi, M. L. D. C. C. (2012). *O adoecer pelo trabalho na enfermagem: uma revisão integrativa*. Revista da Escola de Enfermagem da USP, v. 46, n. 2, pp. 495-504. Acedido em: 14 Jul. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v46n2/a31v46n2.pdf>.

Ribeiro, H.; Günther, W.M.R.; Araújo, J.M. (2002). *Avaliação qualitativa e participativa de projetos: uma experiência a partir de pesquisa em educação ambiental e saneamento do meio*. Saúde Sociedade. São Paulo, v. 11, n. 2, pp. 107-132.

Rocourt, J.; Buchrieser, C. (2007) *The genus Listeria and Listeria monocytogenes: phylogenetic position, taxonomy, and identification*. Listeria, listeriosis and food safety. (3a ed.) Boca Raton: CRC Press, pp. 1-20.

Rodrigues, E. S. C. T. (2012). *Projeto de construção de uma indústria de enchidos e produtos cárneos fumados. Caso prático de um projeto a implementar em Cabo Verde*. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Instituto Politécnico de Leiria e a Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche.

Rodrigues, K. L., Gomes, J. P., Conceição, R. C. S., Brod, C. S., Carvalhau, J. B. E ALeixo, J. A. G, ( 2013). *Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas-RS*. Scielo. Acedido em: 1 Jul. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v23n3/18853>

Rodrigues, A. D. V., (2013). *Monitorização do processo produtivo de Charcutaria*. Dissertação de Mestrado Integrado Engenharia Biológica, Universidade do Minho Escola de Engenharia.

Ross, T. & Nichols, D. (2000). *Ecology of bacteria and fungi in foods. Influence of temperature*. Encyclopedia of food microbiology. Bath: Academic Press. Vol. 1. pp. 546-556.

Rossiter, K.W.L., (2008) *Sistema de gestão de segurança de alimentos na produção industrial: uma abordagem da implantação da norma NBR ISO 22000:2006 – em uma indústria do estado de Pernambuco*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Mecânica. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

- Sadia S.A. (2009). *Gerência de Planejamento e Auditoria de Higiene e Segurança de Alimentos*, Como validar o HACCP, um Exemplo na Indústria de Carnes e Derivados. Acedido em: 17 Jul. 2016. Disponível em: <http://docslide.com.br/documents/2-como-validar-haccp.html>
- Sallam, K. (2007). *Prevalence of Campylobacter in Chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area*. Food Control. Hokkaido, Japan. 1113-1120p.
- Sampaio, I. B. M. 2002. *Estatística aplicada à experimentação animal*. (2a ed). Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte. pp. 107-121.
- Santos, J. (2009) *Avaliação da qualidade microbiológica de carnes de frango comercializadas na cidade de aracaju-se*. Trabalho de licenciatura. Universidade Federal Rural Do Semi-Árido, Brasil.
- Saraiva, C. M. (2008). *Influência do pH final e tipo de embalagem na conservação de carne de bovino da raça maronesa - Parâmetros microbiológicos, físico-químicos, sensoriais e fracção volátil*. Tese de Doutorado em Ciências Veterinárias. Universidade de Trás-os-montes e Alto Douro, pp. 297.
- Sebranek, J.; Bacus, J. (2007). *Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?*. Meat Science, v. 77, pp. 136-147.
- Schaad, N. W., Jones, J. B.; Chun, W. (2001). *Plant pathogen bacterias*. (3a ed). Saint Paul. Editora APS Press. pp. 123-147.
- Scott, V. N., (2005). *How does industry validate elements of HACCP plans*. Food Control 16, pp. 497–503.
- Seixas, F.R.F., Seixas, J. R. F., Reis, J. A., Hoffmann, F. L., (2008). *Check-list para diagnóstico inicial das Boas Práticas de Fabricação em estabelecimentos produtores de alimentos na cidade de São José do Rio Preto (SP)*. Revista Analítica. v. 33, pp. 4-33.
- Serraino, A., Bardasi, L., Riu, R., Pizzamiglio, V., Liuzzo, G., Galletti, G., Giacometti, F., & Merialdi, G. (2012). *Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering*. Meat Science. pp. 502-506.
- Silva, A., Mendonça, F. (2008). *Higiene Alimentar em Creches, Infantários, Escolas, e Instituições de Apoio Social*. Centro Regional de Saúde Pública do Algarve. Ministério da Saúde. pp. 7-15.
- Silva, J. E. A. (2005). *Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação*. (6ª ed.) Varela, pp.624.
- Soares, E. (2007). *Doenças de origem alimentar*. Revista de Segurança e Qualidade Alimentar, (2ª ed), pp. 6-8.
- Soares, J., Bennitez, L. B., Terra, N. N., (2002). *Análise de pontos críticos no abate de frangos, através da utilização de indicadores microbiológicos*. Revista Higiene Alimentar, v. 16, n. 95, pp. 53-61.

- Souza, G. S., Souza Z. M., Silva R. B., Barbosa R. S., Araújo F. S., (2014). *Effects of traffic control on the soil physical quality and the cultivation of sugarcane*. R Bras Ci Solo. pp. 135-46.
- Souza, C. A., Magalhães, G. M. O., Souza, P., Paz, E. S., Santos, M. R. A., (2015). *Padrão de crescimento e calos friáveis de folhas, entrenó e nó de capsicum annuum var. annum cv. iberaba jalapeño*. Acesso em Jul. 1, 2016. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1041078/1/299580215EbookXJornadaCientificaPADRAO.pdf>
- Toldrá, F. (2006). *Meat: Chemistry and biochemistry*. In *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*, vol. 1. Editora Boca Raton CRC Press. pp. 28-1, 28-18.
- Toldrá, F. (2010). *Handbook of Meat Processing*. Editora Wiley-Blackwell. pp. 301-309.
- Toldrá, F. (2002) *Dry-cured meat products*. Food and Nutrition Press. Acesso em Jul. 21, 2016. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470385111.fmatter/pdf>
- Tornberg, E. (2005). *Effects of heat on meat proteins, Implications on structure and quality of meat products*. Meat Science, 70, pp. 493-508.
- Trabulsi, L. R.; Alterthum, F. (2008). *Microbiologia*. (5a ed). Editora Atheneu. pp. 754-760. São Paulo.
- Van der Sluis, W. (2002). *Who is going to cook poultry and for whom? World Poultry*. v.17, pp. 24- 26.
- Van Schothorst, M. (2004). *A Simple Guide to Understanding and Applying the Hazard Analysis Critical Control Point Concept*. (3ª ed). Acesso em Mai. 4, 2016. Disponível em <http://www.ilsa-mexico.org/>
- Vialta, A., Moreno, I., Valle. J. L. E., (2002) *Boas Práticas de Fabricação, Higienização e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Indústria de Laticínios: 1 – Requeijão*. Revista Indústria de Laticínios. (pp. 56-63). São Paulo.
- Viegas, S., (2014). *Segurança Alimentar: Guia de boas práticas do consumidor*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa.
- University of Wisconsin (2013) *Control of microbes*. Department of microbiology, Madison. Disponível em: <https://bact.wisc.edu/seminars.php>
- Warriss, P.D. (2009). *Meat Science an Introductory Text* (2ª ed). London: Modular Texts pp.26-48, 65-73, 130-142.
- Wojslaw, E. B. (2012). *Tecnologia de Alimentos*. AVM Faculdade Integrada. pp. 143.
- Wurlitzer, N. J. (2007). *Industrialização de Alimentos Visando a Saúde do Consumidor*. SENAI, Rio de Janeiro. Acesso em Jul. 21, 2016. Disponível em: <http://www.firjan.org.br/notas/media/Alimentos>.



## 7 Anexos

### Anexo I: Limites microbiológicos

#### A) Limites microbiológicos para produtos cozidos e fumados:

	Satisfatório	Aceitável		Não satisfatório
aeróbios totais a 30° C	$\leq 3 \times 10^4$ ufc/g	$3 \times 10^4 < \text{ufc/g} \leq 3 \times 10^5$	$> 3 \times 10^5$ ufc/g (Na presença de lácticas e Leveduras)	$> 3 \times 10^5$ ufc/g
coliformes totais	$\leq 3 \times 10^1$ ufc/g	$3 \times 10^1 < \text{ufc/g} \leq 3 \times 10^2$		$> 3 \times 10^2$ ufc/g
<i>E. coli</i>	$\leq 1 \times 10^1$ ufc/g	$1 \times 10^3 < \text{ufc/g} \leq 1 \times 10^2$		$> 1 \times 10^2$ ufc/g
bolores e leveduras	$\leq 1 \times 10^1$ ufc/g	$1 \times 10^1 \text{ ufc/g} \leq 1 \times 10^2$		$> 1 \times 10^2$ ufc/g

#### B) Limites microbiológicos para produtos preparados (antes da cozedura):

	Satisfatório	Aceitável	Não satisfatório
aeróbios totais a 30° C	$\leq 5 \times 10^5$ ufc/g	$5 \times 10^5 < \text{ufc/g} \leq 5 \times 10^6$	$> 5 \times 10^6$ ufc/g
coliformes totais	$\leq 5 \times 10^3$ ufc/g	$5 \times 10^3 < \text{ufc/g} \leq 5 \times 10^4$	$> 5 \times 10^4$ ufc/g
<i>E.coli</i>	$\leq 5 \times 10^2$ ufc/g	$5 \times 10^2 < \text{ufc/g} \leq 5 \times 10^3$	$> 5 \times 10^3$ ufc/g

#### C) Limites microbiológicos para superfícies Limpas (Incluindo luvas):

	Satisfatório	Aceitável	Não satisfatório
aeróbios totais a 30° C	$\leq 1 \times 10^1$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$1 \times 10^1 < \text{ufc/100cm}^2 \leq 1 \times 10^2$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$> 3 \times 10^2$ ufc/100cm <sup>2</sup>
Coliformes totais	$\leq 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$< 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$> 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>
<i>E.coli</i>	$\leq 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$< 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$> 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	$< 0.2$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$< 0.2$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$< 0.2$ ufc/100cm <sup>2</sup>

D) Limites microbiológico para carne de Aves de Capoeira – Partes (Jusante Mata-douro):

	Satisfatório		Aceitável		Não satisfatório	
aeróbios totais a 30° C	$\leq 3 \times 10^5$ ufc/g		$3 \times 10^5 < \text{ufc/g} \leq 3 \times 10^6$		$> 3 \times 10^6$ ufc/g	
coliformes totais	$\leq 3 \times 10^3$ ufc/g		$3 \times 10^3 < \text{ufc/g} \leq 3 \times 10^4$		$> 3 \times 10^4$ ufc/g	
<i>E.coli</i>	$\leq 1 \times 10^2$ ufc/g		$1 \times 10^2 < \text{ufc/g} \leq 1 \times 10^3$		$> 1 \times 10^3$ ufc/g	
<i>Listeria monocytogenes</i>	NEG. 25g	Mínimo 5 / 5	POS. 25g	$\leq 1 \times 10^2$ ufc/g	POS. 25g	$> 1 \times 10^2$ ufc/g

E) Limites microbiológico para superfície em trabalho

	Satisfatório	Aceitável	Não satisfatório
aeróbios totais a 30°	$\leq 3 \times 10^3$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$3 \times 10^3 < \text{ufc/100cm}^2 \leq 3 \times 10^4$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$> 3 \times 10^4$ ufc/100cm <sup>2</sup>
coliformes totais	$\leq 2 \times 10^2$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$2 \times 10^2 \text{ ufc/100cm}^2 \leq 2 \times 10^3$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$> 2 \times 10^3$ ufc/100cm <sup>2</sup>
<i>E.coli</i>	$\leq 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$< 10 \text{ ufc/100cm}^2 \leq 1 \times 10^1$ UFC/100cm <sup>2</sup>	$> 1 \times 10^1$ ufc/100cm <sup>2</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	$> 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$> 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>	$< 10$ ufc/100cm <sup>2</sup>

Anexo II: Instrução de Trabalho Geral

A) ITG 20: Verificação de Temperaturas de Expedição e Transporte.

<b>Temperatura dos Produtos</b>	Produtos Refrigerados	Entre 0°C e 4°C
	Produtos Congelados	Inferior a -12°C (limite até -9°C)
	Produtos Ultracongelados	Inferior a -18°C (limite até -15°C)

B) ITG 32: Verificação de Temperaturas de Expedição e Transporte.

<b>Temperatura da câmara frigorífica do caminhão</b>	Zona Refrigerados	Limite	Temperatura	Tempo Máximo
		Objetivo	≤ 3°C	-
		Tolerância	De 3 a 7°C	1 hora
			7 a 10°C	30 minutos
	Zona Congelados	Tolerância	>10°C	<15 minutos
			≤ -15	-
			De -15° a 10°C	2 horas
			De - 10°C a -5°	30 minutos
			Acima de -5°	<15 minutos